



KEMENTERIAN
KESEHATAN
REPUBLIK
INDONESIA



GERMAS
Gerakan Masyarakat
Hidup Sehat



616.995

Ind

P

ISBN 978-623-301-332-

PETUNJUK TEKNIS DAN PEMANTAPAN MUTU

Pemeriksaan Biakan, Identifikasi, dan Uji Kepekaan *Mycobacterium tuberculosis complex* Terhadap Obat Anti Tuberkulosis Pada Media Padat dan Media Cair



Kementerian Kesehatan
2022



KEMENTERIAN
KESEHATAN
REPUBLIK
INDONESIA



GERMAS
Gerakan Masyarakat
Hidup Sehat



616.995

Ind

P

ISBN 978-623-301-332-

PETUNJUK TEKNIS DAN PEMANTAPAN MUTU

Pemeriksaan Biakan, Identifikasi, dan Uji Kepekaan *Mycobacterium tuberculosis complex* Terhadap Obat Anti Tuberkulosis Pada Media Padat dan Media Cair



Kementerian Kesehatan
2022

Katalog Dalam Terbitan. Kementerian Kesehatan RI

616.995

Ind Indonesia. Kementerian Kesehatan RI. Direktorat Jenderal
p Pencegahan dan Pengendalian Penyakit

Petunjuk Teknis dan Pemantapan Mutu : Pemeriksaan Biakan, Identifikasi, dan Uji Kepekaan *Mycobacterium Tuberculosis Complex* terhadap Obat Anti Tuberkulosis pada Media Padat dan Media Cair.— Jakarta : Kementerian Kesehatan RI. 2021

ISBN 978-623-301-332-1

1. Judul I. TUBERCULOSIS
- II. MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS
- III. ANTITUBERCULAR AGENTS
- IV. TUBERCULOSIS – PREVENTION AND CONTROL



PETUNJUK TEKNIS DAN PEMANTAPAN MUTU

Pemeriksaan Biakan, Identifikasi, dan
Uji Kepekaan *Mycobacterium tuberculosis*
complex terhadap Obat Anti Tuberkulosis
pada Media Padat dan Media Cair

Kementerian Kesehatan
2022

PETUNJUK TEKNIS DAN PEMANTAPAN MUTU

PEMERIKSAAN BIAKAN, IDENTIFIKASI, DAN UJI KEPEKAAN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX* TERHADAP OBAT ANTI TUBERKULOSIS PADA MEDIA PADAT DAN CAIR

Kementerian Kesehatan RI
Direktorat Jenderal Pencegahan dan Pengendalian Penyakit (P2P)
Direktorat Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Menular Langsung (P2PML)
Jakarta, 2021

Pengarah : Dr. dr. Maxi Rein Rondonuwu, DHSM, MARS
(Direktur Jenderal Pencegahan dan Pengendalian Penyakit (P2P))

Penanggung Jawab:

dr. Siti Nadia Tarmizi, M. Epid	Direktur P2PML
dr. Yuniar Sp. KJ	Plt. BBLK Surabaya – LRN Biakan dan Uji Kepekaan TBC
dr. Tiffany Tiara Pakasi	Substansi Tuberkulosis Dit P2PML

Kontributor :

Endang Lukitosari, dr, MPH	Substansi Tuberkulosis Dit P2PML
Koesprijani, dr SpPK	LRN Biakan dan Uji Kepekaan TBC
Titiek Sulistyowati, dr, M. Ked.Klin, SpMK	LRN Biakan dan Uji Kepekaan TBC

Editor :

Retno Kusuma Dewi, dr, MPH	Substansi Tuberkulosis Dit P2PML
Lydia Mursida, S.Si	Substansi Tuberkulosis Dit P2PML

Tim Penyusun:

Andriansjah Rukmana, PhD	LRN Molekuler dan Riset Operasional TBC
Arinda Puteri Wihardi, S.K.M.	LRN Biakan dan Uji Kepekaan TBC
Ariyani Kiranasari, Dra, M.Biomed	LRN Molekuler dan Riset Operasional TBC
Budi Haryanto, dr, SpMK	RSUP Persahabatan
Chandra Tyara N, Amd. AK	LRN Biakan dan Uji Kepekaan TBC
Desi Aulia, S.K.M.	Substansi Tuberkulosis Dit P2PML
Elfita Rosyana Endah, Amd. AK	LRN Mikroskopis TBC
Yenny Setiarah, S.ST	LRN Mikroskopis TBC
Isak Solihin, Drs	LRN Mikroskopis TBC
Ita Andayani, S.ST	LRN Biakan dan Uji Kepekaan TBC
Joshua Andika H, Amd. AK	LRN Biakan dan Uji Kepekaan TBC
Junaidi Junwar	BBLK Palembang
Kamla Awaludin	BLK Provinsi Papua

Koespriyani, dr, SpPK	LRN Biakan dan Uji Kepekaan TBC
Lia Iswara, dr, SpMK	RSUP Dr. H. Adam Malik
Lydia Mursida, S.Si	Substansi Tuberkulosis Dit P2PML
Meilinda Rachmawati, AMd. AK	LRN Biakan dan Uji Kepekaan TBC
Muhammad Taufiq, S. ST	LRN Biakan dan Uji Kepekaan TBC
Novia Rachmayanti, M. Biomed	PSM Chemonics
Nurlia Ningsih, AMd. AK	LRN Biakan dan Uji Kepekaan TBC
Nurul Hajarulaswad, S.Tr.Kes	LRN Mikroskopis TBC
Rina Sitanggang, dr	BBLK Jakarta
Retno Kusuma Dewi, dr, MPH	Substansi Tuberkulosis Dit P2PML
Roni Chandra, M.Biomed	TB STAR USAID
Ryan B Ristandi, dr, SpPK	LRN Mikroskopis TBC
Salma P. Yunus, SKM, M. Kes	BLKD Provinsi Sulawesi Utara
Sandeep Meharwal, PhD	PSM Chemonics -USAID
Titiek Sulistyowati, dr, M.Ked.Klin, Sp.MK	LRN Biakan dan Uji Kepekaan TBC
Teguh Supriyanto, SKM	BP4 Tegal
Tri Margianti	BBLK Jakarta
Ummun Rusmana	RSP Rotinsulu
Yulia Suviati, Amd.AK	RSP Mangunharjo
Yuliana Sari, S. Si	HUMRC Makassar
Yoeke Dewi Rasita, dr, M. Ked. Klin, Sp.MK	BBLK Makassar

Diterbitkan Oleh:

Kementerian Kesehatan RI

Hak Cipta dilindungi oleh Undang-Undang

Dilarang memperbanyak buku ini sebagian atau seluruhnya dalam bentuk dan dengan cara apapun juga, baik secara mekanis maupun elektronik termasuk *fotocopy* rekaman dan lain-lain tanpa seijin tertulis dari penerbit.



KATA PENGANTAR

Upaya penanggulangan Tuberkulosis di Indonesia bertujuan untuk mempercepat pencapaian eliminasi Tuberkulosis pada tahun 2030 dan mengakhiri epidemi Tuberkulosis di tahun 2050. Sebagai salah satu negara dengan beban tinggi untuk penyakit Tuberkulosis (TBC), selain masih menghadapi tantangan dalam menanggulangi Tuberkulosis sensitif obat (TBC SO), Indonesia juga menghadapi permasalahan Tuberkulosis resisten obat (TBC RO). Mengacu pada laporan TBC global yang dikeluarkan WHO pada tahun 2021, diperkirakan terdapat 824.000 kasus TBC baru dan 24.000 kasus TBC-RO di Indonesia pada tahun 2020.

Penanggulangan TBC RO lebih rumit dibanding TBC SO. Salah satunya dalam aspek diagnosis. Berbeda dengan TBC SO, diagnosis TBC RO tidak bisa dilakukan dengan pemeriksaan mikroskopis, melainkan hanya dengan uji kepekaan *M. tuberculosis* baik dengan metode molekuler seperti menggunakan tes cepat molekuler TB (TCM TB) dan *Line Probe Assay* (LPA) maupun dengan metode konvensional dengan uji kepekaan fenotipik. Metode molekuler dapat memberikan hasil pemeriksaan yang jauh lebih cepat namun masih terbatas untuk beberapa obat tertentu dan belum tersedia untuk obat-obat tuberkulosis yang baru. Oleh karena itu, dukungan untuk pengembangan dan penguatan laboratorium biakan dan uji kepekaan fenotipik tetap menjadi prioritas dalam Program Penanggulangan Tuberkulosis.

Buku Petunjuk Teknis dan Pemantapan Mutu Pemeriksaan Biakan, Identifikasi, dan Uji Kepekaan *Mycobacterium tuberculosis complex* (*M. tbc*) terhadap Obat Anti Tuberkulosis pada Media Padat dan Media Cair disusun untuk menjadi acuan laboratorium biakan dan uji kepekaan dalam hal perencanaan, pelaksanaan, monitoring dan pengembangan laboratorium biakan dan uji kepekaan *M. tuberculosis* sehingga menghasilkan pemeriksaan dengan mutu yang terjamin.

Kami mengucapkan terima kasih dan penghargaan kepada Laboratorium Rujukan Nasional untuk Pemeriksaan Biakan dan Uji Kepekaan Fenotipik BBLK Surabaya dan semua pihak yang telah bekerja sama untuk menyusun buku petunjuk teknis ini. Semoga petunjuk teknis ini bermanfaat bagi semua laboratorium biakan dan uji kepekaan *M. tuberculosis* di Indonesia.

Jakarta, Desember 2021
Direktur Jenderal P2P



Dr. dr. Maxi Rein Rondonuwu, DHSM, MARS

KATA SAMBUTAN

Indonesia termasuk tiga besar negara dengan jumlah penderita tuberkulosis (TBC) terbanyak di dunia. Penderita TBC di Indonesia tidak hanya TBC Sensitif Obat, bahkan sudah banyak TBC Resistan Obat (TBC RO) atau *Multi Drug-resistant Tuberculosis* (TBC MDR) dan *Extensively Drug-resistant Tuberculosis* (TBC XDR). Angka *default* yang tinggi serta penggunaan obat TBC lini pertama dan kedua yang tidak rasional memberikan tantangan yang besar dalam menanggulangi masalah TBC RO.

Manajemen Terpadu Pengendalian TBC Resistan Obat (MTPTRO) bertujuan untuk menemukan pasien TBC MDR, sehingga dapat memutus rantai penularan. Laboratorium TBC sebagai unit terdepan dalam diagnosis dan evaluasi penatalaksanaan pasien TBC MDR harus mengikuti standar dan terpantau mutu. Diagnosis pasien TBC MDR dilakukan dengan pemeriksaan biakan dan uji kepekaan *Mycobacterium tuberculosis complex* (*M. tbc*) sebagai pemeriksaan *gold standard* untuk deteksi resistansi obat.

Petunjuk Teknis Pemeriksaan Biakan, Identifikasi, dan Uji Kepekaan *Mycobacterium tuberculosis complex* (*M. tbc*) terhadap Obat Anti Tuberkulosis pada Media Padat dan Media Cair dapat digunakan sebagai acuan bagi laboratorium untuk melaksanakan pemeriksaan biakan, identifikasi dan uji kepekaan TBC sesuai standar.

Kami mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah bekerja sama untuk menyusun petunjuk teknis ini. Semoga buku petunjuk teknis ini bisa bermanfaat bagi semua pihak, khususnya laboratorium yang melakukan pemeriksaan biakan dan uji kepekaan TBC. Demi kesempurnaan buku petunjuk teknis ini, kami mengharapkan masukan dan saran. Terima kasih.

Surabaya, Desember 2021
Plt. Kepala BBLK Surabaya

dr. Yuniar, Sp. KJ
NIP. 196808171996032005

DAFTAR ISI

TIM PENYUSUN	2
KATA PENGANTAR	4
KATA SAMBUTAN	5
DAFTAR ISI	6
DAFTAR TABEL	8
DAFTAR GAMBAR	10
DAFTAR LAMPIRAN	11
DAFTAR SINGKATAN	12
1. PENDAHULUAN	14
2. KARAKTERISTIK <i>MYCOBACTERIUM</i>	16
3. <i>BIO SAFETY</i> DAN <i>BIOSECURITY</i> LABORATORIUM	20
a. <i>Biosafety</i> (Keselamatan dan Kesehatan Kerja) di Laboratorium	21
1) Desain laboratorium Tuberkulosis	25
2) Prosedur Laboratorium	35
3) Alat Pelindung Diri (APD)	37
4) Sumber Daya Manusia	38
5) Pekerjaan Laboratorium Khusus Yang Berisiko Infeksi	40
6) Penanganan Limbah	41
7) Penanganan Tumpahan Infeksius	42
b. Biosecurity Laboratorium (Keamanan Laboratorium)	45
4. BIAKAN <i>MYCOBACTERIUM TUBERKULOSIS COMPLEX (M. tbc)</i>	46
a. Pengumpulan Spesimen	46
b. Penyimpanan Spesimen	48
c. Pengiriman Spesimen	48
d. Penerimaan Spesimen	50
e. Pemrosesan Spesimen	50
f. Subbiakan / Subkultur	71
g. Penyimpanan Isolat	72
h. Resusitasi stok biakan dari -70 °C	74
5. IDENTIFIKASI <i>MYCOBACTERIUM TUBERKULOSIS COMPLEX (M. tbc)</i>	75

a.	Pewarnaan Basil Tahan Asam (BTA) dengan Ziehl-Neelsen (ZN)	75
b.	Uji Niacin	78
c.	Uji Para Nitro Benzoic Acid (PNB)	80
d.	Uji Imunokromatografi	83
6.	UJI KEPEKAAN <i>MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX</i> (<i>M. tb</i>) TERHADAP OBAT ANTI TUBERKULOSIS	87
a.	Uji Kepekaan pada Media Padat/Solid.....	89
1)	Metode Proporsional pada Media Lowenstein-Jensen (LJ).....	89
2)	Metode Proporsional pada Media Middlebrook 7H10 atau 7H11 agar	96
b.	Media Cair: <i>Mycobacterium Growth Indicator Tube</i> (MGIT).....	105
1)	Uji Kepekaan Obat Anti Tuberkulosis Lini Pertama	105
2)	Uji Kepekaan Pyrazinamide (PZA)	110
3)	Uji kepekaan Obat Anti Tuberkulosis (OAT) Lini 2.....	114
7.	PEMANTAPAN MUTU	128
a.	Pemantapan Mutu Internal	128
b.	Pemantapan Mutu Eksternal.....	138
c.	Evaluasi Indikator Kinerja	140
8.	PENGEMBANGAN LABORATORIUM BIAKAN DAN UJI KEPEKAAN TUBERKULOSIS.	147
a.	Sarana dan Prasarana Laboratorium.....	148
b.	Standarisasi Laboratorium Biakan TBC di Indonesia	148
c.	Sertifikasi Laboratorium Uji Kepekaan TBC.....	149
d.	Identifikasi Masalah dan Tindakan Korektif (<i>Troubleshooting</i>).....	152
e.	Tantangan Pengembangan Laboratorium Biakan dan Uji Kepekaan TBC	153
9.	PENCATATAN DAN PELAPORAN.....	155
a.	Jenis Formulir TBC untuk Pemeriksaan Laboratorium TBC.....	155
b.	Pencatatan dan Pelaporan Indikator Kinerja Utama (IKU) Lab Biakan Tuberkulosis	156
c.	Hal-hal yang harus diperhatikan dalam Pencatatan Pelaporan Pemeriksaan Biakan dan Uji Kepekaan TBC	156
d.	Tahapan Pengisian Hasil Pemeriksaan Biakan dan Uji Kepekaan di SITB ...	157
	REFERENSI.....	165
	LAMPIRAN	167

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Epidemiologi M. tbc.....	17
Tabel 2.	Pembagian NTM berdasarkan klasifikasi Runyon.....	18
Tabel 3.	Tingkat keamanan dan risiko laboratorium.....	22
Tabel 4.	Perbandingan fasilitas laboratorium pada masing-masing biosafety level....	23
Tabel 5.	Kriteria kebutuhan laboratorium biakan dan uji kepekaan Tuberkulosis....	24
Tabel 6.	Tingkat risiko laboratorium TBC berdasarkan jenis kegiatan laboratorium dan penilaian risiko untuk laboratorium Tuberkulosis (TBC)	25
Tabel 7.	Perkiraan beban kerja maksimum untuk pemeriksaan biakan dan uji kepekaan yang dapat dilakukan oleh satu orang teknisi yang kompeten.39	
Tabel 8.	Komposisi larutan NALC-NaOH.....	51
Tabel 9.	Cara Pembacaan dan pencatatan hasil biakan pada media LJ	63
Tabel 10.	Pembacaan dan pelaporan hasil pemeriksaan biakan MGIT.....	69
Tabel 11.	Konsentrasi kritis (critical concentration/cc) obat lini pertama yang direkomendasikan untuk terapi TBC sensitif obat.....	88
Tabel 12.	Konsentrasi kritis dan breakpoint klinis obat yang direkomendasikan pengobatan TBC RR dan TBC MDR.	89
Tabel 13.	Konsentrasi dan pelarut yang dibutuhkan untuk persiapan obat lini pertama dan kedua yang dicampurkan dengan 500 ml media Lowenstein Jensen (guideline WHO)	92
Tabel 14.	Komposisi campuran barium klorida dan asam sulfat untuk mencapai standar kekeruhan McFarland yang berbeda dan korelasi dengan jumlah bakteri per mililiter suspensi.....	94
Tabel 15.	Konsentrasi kritis obat pada media 7H10 dan 7H11 agar.....	97
Tabel 16.	Konsentrasi dan larutan yang diperlukan untuk preparasi OAT lini satu dan dua pada 500 ml media 7H10 agar.....	98
Tabel 17.	Konsentrasi dan larutan yang diperlukan untuk preparasi OAT lini satu dan dua pada 500 ml media 7H11 agar.....	99

Tabel 18. Perhitungan dan pelaporan koloni yang tumbuh pada plate media 7H10/7H11	103
Tabel 19. Rekonstitusi volume dan konsentrasi akhir obat TBC lini pertama.	108
Tabel 20. Jenis Antibiotik dari BD	115
Tabel 21. Ketersediaan Antibiotik dari GDF dan pabrikan lain	116
Tabel 22. Konsentrasi dan larutan untuk persiapan obat lini kedua pada sistem BACTEC MGIT 960	117
Tabel 23. Pembersihan alat	134
Tabel 24. Pemeliharaan dan kalibrasi alat	136
Tabel 25. Pemeliharaan rutin alat MGIT	137
Tabel 26. Tabel Indikator Kinerja Umum	141
Tabel 27. Indikator kinerja utama laboratorium biakan.....	142
Tabel 28. Indikator kinerja utama laboratorium uji kepekaan.	143
Tabel 29. Format Tabel Prevalensi Pola Resistansi Obat Tuberkulosis	144

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Contoh denah ruangan laboratorium biakan dan uji kepekaan <i>M. tbc</i> ...	29
Gambar 2.	Contoh denah laboratorium untuk biakan dan uji kepekaan <i>M. tbc</i> berikut dengan penempatan peralatan	31
Gambar 3.	Tampak kanan atas untuk contoh ruangan laboratorium biakan dan uji kepekaan <i>M. tbc</i>	32
Gambar 4.	Tampak belakang atas untuk contoh ruangan laboratorium biakan dan uji kepekaan <i>M. tbc</i>	33
Gambar 5.	Tampak kiri atas untuk contoh ruangan laboratorium biakan dan uji kepekaan <i>M. tbc</i>	34
Gambar 6.	Tanda baku biohazard internasional	35
Gambar 7.	Prinsip “ <i>triple packaging</i> ” untuk pengiriman spesimen	49
Gambar 8.	Pertumbuhan koloni bakteri <i>M. tbc</i> pada media padat LJ	63
Gambar 9.	Ilustrasi prinsip biakan <i>M. tbc</i> pada media cair – MGIT	66
Gambar 10.	Gambaran visual dari tabung MGIT positif yang menunjukkan adanya pertumbuhan koloni.....	70
Gambar 11.	Bentukan “ <i>formation cord</i> atau <i>serpentine cord</i> ” pada pemeriksaan sediaan apusan dengan pewarnaan ZN.	77
Gambar 12.	Bentukan “ <i>formation cord</i> atau <i>serpentine cord</i> ” pada pemeriksaan sediaan apusan dengan pewarnaan ZN dari tabung MGIT positif yang terkontaminasi.....	78
Gambar 13.	Uji niasin dilakukan dengan dengan strip kertas saring.	79
Gambar 14.	Uji identifikasi isolat dengan metode imunokromatografi	86
Gambar 15.	Standar kekeruhan McFarland secara visual (kiri) dan nephelometer (kanan).....	94
Gambar 16.	Ilustrasi uji kepekaan pada media 7H10 atau 7H11	102
Gambar 17.	Perbaikan mutu secara kontinu	146
Gambar 18.	Tahapan sertifikasi panel uji kepekaan <i>M. tbc</i>	150

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Peralatan laboratorium biakan dan uji kepekaan MTB dengan media pada dan media cair.....	167
Lampiran 2. Bahan habis pakai laboratorium biakan dan uji kepekaan MTB dengan media padat dan media cair.....	171
Lampiran 3. Reagen laboratorium biakan dan uji kepekaan MTB dengan media padat dan media cair.....	174
Lampiran 4. Contoh Surat Pemberitahuan dan Formulir Kesiapan Mengikuti Uji Panel.....	178
Lampiran 5. Contoh Surat Pengantar Pengiriman Panel & Formulir Tanda.....	180
Lampiran 6. Contoh Rencana Jadwal PME Uji Kepekaan <i>M. tuberculosis</i>	182
Lampiran 7. Contoh Formulir Pengisian Hasil Panel Uji Kepekaan SDP.....	183
Lampiran 8. Contoh Daftar Laboratorium Peserta Panel Tahun 2020.....	184
Lampiran 9. Lembar Penilaian Laboratorium Biakan TBC.....	185
Lampiran 10. Lembar Definisi Operasional Penilaian Kesiapan Mengikuti Tes Panel Laboratorium Uji Kepekaan TBC.....	189
Lampiran 11. Formulir TBC-06 (manual).....	196
Lampiran 12. Formulir Register TBC-05.....	200
Lampiran 13. Formulir TBC-04 (manual).....	203
Lampiran 14. Laporan IKU Laboratorium Biakan TBC.....	208

DAFTAR SINGKATAN

AC	: <i>Air Conditioner</i>
ACMV	: <i>Air Conditioner Mechanical Ventilation</i>
ADC	: <i>Albumin-Dextrose-Catalase</i>
AHU	: <i>Air Handling Unit</i>
AMK	: <i>Amikacin</i>
APD	: <i>Alat Pelindung Diri</i>
AST	: <i>Antimycobacterial susceptibility testing</i>
BAL	: <i>Bronchial Alveolar Lavage</i>
BBLK	: <i>Balai Besar Laboratorium Kesehatan</i>
BCG	: <i>Bacille Calmette-Guérin</i>
BD	: <i>Becton Dickinson</i>
BDQ	: <i>Bedaquiline</i>
BHI	: <i>Brain Heart Infusion</i>
BHP	: <i>Bahan Habis Pakai</i>
BSC	: <i>Biological Safety Cabinet</i>
BSL2+	: <i>Biosafety Level 2 plus</i>
BTA	: <i>Basil Tahan Asam</i>
CC	: <i>Critical Concentration</i>
CFZ	: <i>Clofazimine</i>
CLSI	: <i>The Clinical & Laboratory Standards Institute</i>
CS	: <i>Cycloserine</i>
DLM	: <i>Delamanid</i>
DST	: <i>Drug Susceptibility Test</i>
E	: <i>Ethambutol</i>
EDTA	: <i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
ETO	: <i>Ethionamide</i>
EXT	: <i>Exhaust Fan</i>
FDA	: <i>Food Drug Association</i>
GC	: <i>Growth Control</i>
GMT	: <i>Good Microbiological Techniques</i>
GU	: <i>Growth Unit</i>
HCl	: <i>Hydrogen Chloride</i>
HEPA	: <i>High Efficiency Particulate Air</i>
ID	: <i>Infectious dose</i>
HVAC	: <i>Heating, Ventilation, and Air Conditioning</i>
IKU	: <i>Indikator Kinerja Utama</i>
IMP/CLN	: <i>Imipenem-Cilastatin</i>
IMVS	: <i>The Institute of Medical and Veterinary Science</i>
INH	: <i>Isoniazid</i>
ISO	: <i>International Organization for Standardization</i>
K3	: <i>Keselamatan dan Keamanan Kerja</i>
LJ	: <i>Lowenstein Jensen</i>
MDR	: <i>Multi Drug-resistant Tuberculosis</i>
MXF	: <i>Moxifloxacin</i>
MGIT	: <i>Mycobacterium Growth Indicator Tube</i>
MIC	: <i>Minimum Inhibitory Concentration</i>

MPM	: Meropenem
MPT64	: <i>Mtbc</i> protein 64
MTB	: Mycobacterium
MTPTRO	: Manajemen Terparu Pengendalian TBC Resistan Obat
MTBC	: <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
NaCl	: Natrium Clorida
NALC	: N-Acetyl Cystein
NaOH	: Natrium Hidroksida
NRL	: <i>National Reference Laboratory</i>
NTM	: <i>Non-Tuberculosis Mycobacterium</i>
NTP	: <i>National Tuberculosis Program</i>
LFX	: Levofloxacin
LPA	: <i>Line Probe Assay</i>
LZD	: Linezolid
OADC	: <i>Oleic acid, albumin, dextrose and catalase</i>
OAT	: Obat Anti Tuberkulosis
PANTA	: Polymyxin B, amphotericin B, nalidixic acid, trimethoprim, and azlocillin
PAS	: Para-Aminosalicylic Acid
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
PMI	: Pemantapan Mutu Internal
PME	: Pemantapan Mutu Eksternal
PNB	: Para Nitro Benzoic Acid
POES	: Polyoxyethylene state
PT	: <i>Passthrough Box</i>
PTO	: Prothionamide
PZA	: Pyrazinamide
QC	: <i>Quality Control</i>
RIF	: Rifampicin
RTL	: Rencana Tindak Lanjut
S	: Streptomycin
SDM	: Sumber Daya Manusia
SIRE	: Streptomisin, Isoniazid, Rifampicin, dan Ethambutol
SITB	: Sistem Informasi Program Tuberkulosis
SPO	: Standar Prosedur Operasional
SPS	: Sodium Polianethol Sulfonate
SRL	: <i>Supranational Reference Laboratory</i>
TBC	: Tuberculosis (Tuberkulosis)
SS	: <i>Stock Solution</i>
TAT	: <i>Turn Around Time</i>
TBC SO	: Tuberkulosis Sensitif Obat
TBC RO	: Tuberkulosis Resistan Obat
TCM	: Tes Cepat Molekuler
TZD	: Terizidone
WHO	: <i>World Health Organization</i>
WS	: <i>Working Solution</i>
XDR	: <i>Extensively Drug Resistant</i>

1. PENDAHULUAN

Tuberkulosis resistan obat (TBC-RO) merupakan masalah kesehatan masyarakat yang utama di tingkat global dan nasional yang dapat mengancam kemajuan yang sudah berhasil dicapai dalam penanggulangan TBC selama ini. Resistansi obat pada *Mycobacterium tuberculosis complex* (*M. tbc*) disebabkan oleh mutan genomik alami. Terdapat dua mekanisme yang menyebabkan terjadinya TBC yang resistan terhadap obat (TBC-RO), yaitu:

1. Pengobatan TBC yang suboptimal (TBC-RO sekunder).

Hal ini dapat disebabkan karena kebijakan yang tidak memadai, kegagalan sistem kesehatan dan penyediaan perawatan, kualitas obat TBC yang buruk, pasien tidak patuh, atau kombinasi dari semua hal tersebut

2. Transmisi langsung TBC-RO dari satu orang kepada yang lain (TBC-RO primer).

Secara global, pada tahun 2019, sekitar 3,3% dari kasus TBC baru dan 17,7% dari kasus TBC pengobatan ulang merupakan kasus TBC-MDR/TBC-RR.

Diperkirakan terdapat sekitar setengah juga orang menderita TBC resistan rifampicin, dimana 78% di antaranya adalah kasus TBC MDR.

Diagnosis dini dan penatalaksanaan pasien TBC dari segala usia dan semua bentuk TBC menjadi krusial untuk penanggulangan TBC. Hal tersebut akan membutuhkan jaminan akses terhadap tes diagnostik cepat yang sudah direkomendasikan oleh WHO (*WHO recommended rapid diagnostic/ WRD*). Akses universal terhadap uji kepekaan saat ini tidak lagi diprioritaskan hanya untuk orang yang beresiko tinggi TBC MDR dan/atau TBC-HIV. Pada tahun 2016, WHO mendefinisikan akses universal terhadap uji kepekaan sebagai pemeriksaan uji kepekaan setidaknya terhadap Rifampicin bagi semua pasien TBC terkonfirmasi bakteriologis dan pemeriksaan uji kepekaan terhadap fluorokuinolon dan obat injeksi lini kedua bagi semua pasien TBC yang resistan terhadap rifampicin; uji kepekaan yang dimaksud dapat dilakukan menggunakan metode genotipik maupun fenotipik. (WHO, Definition and reporting framework for tuberculosis, 2013)

Penatalaksanaan TBC dan TBC-RO yang efektif tergantung pada kecepatan diagnosis dan pengobatan infeksi yang resistan. Uji kepekaan dengan metode fenotipik yang berbasis biakan merupakan baku emas (*gold standard*) untuk uji kepekaan saat ini, tetapi membutuhkan waktu yang relatif lama, memerlukan infrastruktur laboratorium yang canggih, staf yang kompeten dan pemantauan mutu yang ketat. Selama ini uji kepekaan *M. tbc* bergantung pada pengujian konsentrasi kritis (*critical concentration/CC*) tunggal yang digunakan untuk membedakan isolat *M. tbc* yang resistan diantara yang sensitif dan hal ini bersifat spesifik untuk tiap OAT dan metode yang digunakan. Pemeriksaan laboratorium untuk uji kepekaan kuman *M. tbc* terhadap OAT mempunyai 3 tujuan utama, yaitu:

1. Sebagai panduan bagi klinisi dalam pemilihan obat yang akan diberikan kepada pasien.

2. Mengkonfirmasi bahwa resistansi obat telah terjadi ketika seorang pasien tidak menunjukkan hasil yang memuaskan terhadap pengobatan.
3. Sebagai sarana surveilans resistansi obat.

Untuk melakukan uji kepekaan fenotipik, *Mycobacterium* pada awalnya ditumbuhkan pada berbagai variasi media padat maupun cair. Media yang paling sering digunakan adalah *Löwenstein – Jensen* (LJ), agar *Middlebrook* 7H10 (7H10), agar *Middlebrook* 7H11 yang diperkaya (7H11) dan *Middlebrook* 7H9 broth yang digunakan sebagai media pada sistem biakan otomatis MGIT (*mycobacterial growth indicator tube*). Pertumbuhan bakteri pada media padat dapat diidentifikasi secara visual yaitu dengan mengidentifikasi pertumbuhan karakteristik atau deteksi otomatis fluoresensi pada media cair MGIT yang mengindikasikan pengurangan tekanan oksigen yang disebabkan oleh pertumbuhan bakteri. Sebelum melakukan uji kepekaan, semua biakan positif harus diuji terlebih dahulu untuk memastikan bahwa biakan yang tumbuh adalah benar *M. tbc* dan bukan NTM atau bakteri lainnya.

Metode proporsi tidak langsung menggunakan media padat adalah metode yang paling umum digunakan untuk uji kepekaan *M. tbc*. Pada metode tersebut, inokulum dengan jumlah tertentu diinokulasikan ke media yang mengandung obat dan serial dilusi 10^{-2} digunakan untuk inokulasi media kontrol tanpa obat. Jumlah koloni yang sudah dikoreksi sesuai dengan faktor dilusi pada media kontrol tanpa obat dibandingkan dengan jumlah koloni pada media yang mengandung OAT pada konsentrasi kritis (*critical concentration*). Isolat yang diuji tersebut dinyatakan resistan apabila terdapat pertumbuhan setidaknya sejumlah 1% pada media mengandung OAT pada konsentrasi kritis.

Sistem biakan cair komersil (MGIT) untuk uji kepekaan dapat memberikan hasil yang lebih cepat yaitu sekitar 10 hari dibandingkan dengan media padat yang memerlukan waktu 28-42 hari. Oleh karena itu, penggunaan media cair dapat memperbaiki manajemen pasien karena tatalaksana dapat lebih cepat diberikan.

Penggunaan Petunjuk Teknis

Petunjuk teknis Pemeriksaan Biakan dan Uji Kepekaan ini dimaksudkan sebagai acuan bagi Program Penanggulangan Tuberkulosis di semua tingkatan mulai dari pusat, provinsi dan kabupaten/kota; laboratorium pemeriksa biakan dan uji kepekaan *M. tbc*; fasyankes di semua tingkatan baik FKTP maupun FKRTL dalam melakukan pemeriksaan, menggunakan serta mengembangkan laboratorium biakan/ uji kepekaan *M. tbc*. Beberapa ketentuan teknis yang ada dalam petunjuk teknis ini merujuk kepada referensi keilmuan baik di tingkat global maupun nasional. Penggunaan pemeriksaan biakan dan uji kepekaan *M. tbc* yang didukung dengan pembiayaan dari Program Nasional Penanggulangan Tuberkulosis akan mengikuti ketentuan yang berlaku.

2. KARAKTERISTIK MYCOBACTERIUM

Mycobacterium merupakan bakteri aerob, tidak berspora (kecuali *M. marinum*), non motil, berbentuk batang lurus atau sedikit melengkung sangat tipis (ukuran $0,2-0,6 \times 1-10 \mu\text{m}$). Beberapa spesies ada yang mempunyai morfologi bercabang. *Mycobacterium* merupakan satu-satunya genus dalam keluarga Mycobacteriaceae (ordo Actinomycetales, kelas Actinomycetes). Genus yang berkaitan erat dengan *Mycobacterium* antara lain *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Tsukamurella*, dan *Gordonia*.

Bakteri ini mempunyai struktur dinding sel unik. Dinding sel mengandung *N-glycolylmuramic acid* dan lipid yang sangat tinggi. Struktur ini juga yang menyebabkan bakteri ini sulit dilakukan pewarnaan Gram. Bakteri ini khas mempunyai sifat tahan terhadap asam sehingga dikenal sebagai basil tahan asam (BTA). Kekhasan lain adalah sifat pertumbuhan lambat dibandingkan patogen lain yaitu membutuhkan waktu generasi sel (sel membelah menjadi dua) sekitar 20-36 jam.

Mycobacterium dapat dibagi menjadi 2 (dua) kelompok, berdasarkan perbedaan dasar dalam epidemiologi dan hubungan dengan penyakit yaitu *M. tbc* dan *Mycobacterium other than tuberculosis* (MOTT) atau *Non-Tuberculous Mycobacterium* (NTM).

M. tbc terdiri dari beberapa spesies berikut:

1. *Mycobacterium tuberculosis*
2. *Mycobacterium bovis*
3. *Mycobacterium bovis* BCG
4. *Mycobacterium africanum*
5. *Mycobacterium caprae*
6. *Mycobacterium canettii*
7. *Mycobacterium microti*
8. *Mycobacterium pinnipedii*

Semua spesies ini mampu menyebabkan penyakit tuberkulosis. Identifikasi spesies mungkin diperlukan untuk alasan epidemiologi dan kesehatan masyarakat. Organisme *M. tbc* mempunyai sifat pertumbuhan lambat dan koloni tidak berpigmen.

Tabel 1. Epidemiologi *M. tuberculosis*

Organisme	Habitat	Transmisi primer	Distribusi
<i>M. tuberculosis</i>	Pasien dengan penyakit kavitas merupakan reservoir primer	Dari orang ke orang melalui inhalasi dari droplet nuklei (aerosol infeksius mengandung mikroorganisme, 1-5 μm , yang ditularkan saat orang batuk, bersin, bicara atau menyanyi). Aerosol juga bisa dihasilkan oleh tindakan manipulasi spesimen klinis di laboratorium.	Seluruh dunia
<i>M. bovis</i>	Manusia dan binatang (sapi, primata bukan manusia, kambing, kucing, kerbau, luak, posum, anjing, babi, dan rusa)	Minum susu yang terkontaminasi dari sapi terinfeksi; transmisi udara	Seluruh dunia
<i>M. africanum</i>	Manusia	Inhalasi nuklei droplet	Afrika tropis Timur dan Barat; beberapa kasus telah diidentifikasi di Amerika Serikat
<i>M. caprae</i>	Jarang pada manusia, banyak menginfeksi binatang	Inhalasi droplet nuklei	Eropa
<i>M. microti</i>	Jarang pada manusia, pada binatang kecil (tikus atau binatang pengerat lainnya)	Inhalasi droplet nuklei	Eropa, Inggris, Belanda
<i>M. canettii</i>	Reservoir alami masih belum jelas. Jarang menginfeksi manusia	Belum jelas	Afrika
<i>M. pinnipedii</i>	Jarang menginfeksi manusia. Dominan pada binatang.	Belum jelas	Eropa

NTM mencakup semua spesies *Mycobacterium* yang bukan *M. tuberculosis*. Saat ini, kira-kira 130 spesies NTM yang telah dikenal. NTM bisa berada di lingkungan dan kadang mengkolonisasi kulit, saluran pernapasan dan saluran gastrointestinal individu yang sehat. Sampai saat ini baru sedikit informasi yang diperoleh tentang bagaimana infeksi didapat, tetapi ada beberapa mekanisme seperti trauma, menghirup aerosol infeksius, dan ingesti; sedikit penyakit bersifat nosokomial atau didapat sebagai infeksi iatrogenik. NTM biasanya tidak

ditularkan dari orang ke orang. Interpretasi biakan NTM positif juga rumit, karena organisme ini didistribusikan secara luas di alam, potensi patogen NTM sangat bervariasi dari satu spesies ke spesies lain, dan bakteri ini bisa hanya kolonisasi tanpa menyebabkan infeksi atau penyakit.

Tahun 1959 Runyon mengklasifikasikan NTM menjadi 4 (empat) kelompok (Runyon I - IV) berdasarkan karakteristik fenotipik dari berbagai spesies, terutama kecepatan pertumbuhan dan pigmentasi koloni (Tabel 2). Sistem Runyon mengategorikan NTM yang tumbuh lambat – *slow grower* (Runyon I s.d. III) dan pertumbuhan cepat – *rapid grower* (Runyon IV). Satu NTM lain, *M. leprae*, yang tidak bisa dibiakkan pada media artifisial, juga ditinjau. Seperti banyak skema klasifikasi, klasifikasi Runyon tidak selalu berlaku. Misalnya, beberapa NTM dapat berupa photochromogen atau nonphotochromogen.

Tabel 2. Pembagian NTM berdasarkan klasifikasi Runyon

Klasifikasi Runyon	Nama kelompok	Deskripsi	Contoh
I	Photochromogen	Koloni NTM yang menghasilkan pigmen jika terkena paparan cahaya setelah dibiakkan di kondisi gelap dan membutuhkan waktu lebih dari 7 hari sehingga terlihat di media padat.	<i>M. kansasii</i> <i>M. asiaticum</i> <i>M. marinum</i>
II	Scotochromogen	Koloni NTM yang menghasilkan pigmen dalam gelap maupun terang dan membutuhkan waktu lebih lama dari 7 hari sehingga terlihat di media padat.	<i>M. szulgai</i> ; <i>M. scrofulaceum</i> <i>M. interjectum</i> ; <i>M. gordonae</i> <i>M. cookie</i> ; <i>M. hiberniae</i> <i>M. lentiflavum</i> ; <i>M. conspicuum</i> <i>M. heckeshornense</i> ; <i>M. tusciae</i> <i>M. kubicae</i> ; <i>M. ulcerans</i> <i>M. bohemicum</i>
III	Non photochromogen	Koloni NTM tidak berpigmen, dan membutuhkan waktu lebih dari 7 hari sehingga terlihat di media padat.	<i>M. avium complex</i> <i>M. avium</i> subsp. <i>Avium</i> ; subsp. <i>Silvaticum</i> ; subsp. <i>paratuberculosis</i> <i>M. intracellulare</i> ; <i>M. celatum</i> <i>M. ulcerans</i> ; <i>M. gastri</i> <i>M. genavense</i> ; <i>M. haemophilum</i> <i>M. malmoense</i> ; <i>M. shimoidei</i> <i>M. xenopi</i> ; <i>M. heidelbergense</i> <i>M. branderi</i> ; <i>M. simiae</i> <i>M. triplex</i> ;

			<i>M. conspicuum</i>
IV	<i>Rapid grower</i>	Koloni NTM yang tumbuh di media padat dan membutuhkan waktu kurang dari 7 hari.	<i>M. fortuitum</i> ; <i>M. chelonae</i> <i>M. abscessus subsp. abscessus</i> <i>M. abscessus subsp. bolletii</i> <i>M. smegmatis</i> ; <i>M. peregrinum</i> <i>M. immunogenum</i> ; dll

(Tille, 2014)

3. BIOSAFETY DAN BIOSECURITY LABORATORIUM

Biosafety dan *biosecurity* laboratorium adalah konsep yang saling terkait, tetapi keduanya tidak identik. Program *biosafety* mengurangi paparan individu dan lingkungan terhadap agen biologis yang berpotensi berbahaya. *Biosafety* dicapai dengan menerapkan berbagai tingkat pengendalian berbasis kinerja dan langkah-langkah penanganan bahan biologis, melalui desain infrastruktur dan pembatasan akses, keahlian dan pelatihan petugas laboratorium, penggunaan peralatan yang sesuai, dan metode yang aman dalam mengelola bahan infeksius.

Sementara itu *biosecurity* laboratorium adalah upaya pencegahan pencurian, kehilangan, atau penyalahgunaan bahan biologis, teknologi, atau informasi terkait penelitian yang dilakukan melalui program pencegahan kekerasan, pelatihan *biosecurity* laboratorium, proses pengawasan pemeriksaan/ penelitian, pengendalian material dan fasilitas serta standar akuntabilitas. Namun, *biosecurity* laboratorium tidak terbatas pada itu saja.

Meskipun tujuannya berbeda, tindakan *biosafety* dan *biosecurity* laboratorium biasanya saling melengkapi dan memiliki komponen yang sama. Keduanya didasarkan pada penilaian risiko dan metodologi manajemen, keahlian dan tanggung jawab personel, pengendalian dan pertanggungjawaban bahan penelitian termasuk mikroorganisme dan stok biakan, elemen kontrol akses, dokumentasi transfer material, pelatihan, perencanaan darurat, dan manajemen program.

Biosafety maupun *biosecurity* menilai kualifikasi petugas laboratorium. Program *biosafety* memastikan bahwa petugas laboratorium memenuhi syarat untuk melakukan pekerjaan mereka dengan aman melalui pelatihan dan dokumentasi keahlian teknis. Petugas laboratorium harus menunjukkan tingkat tanggung jawab profesional yang sesuai untuk pengelolaan spesimen pemeriksaan/penelitian dengan mematuhi prosedur pengelolaan spesimen yang sesuai. Praktik *biosafety* mengharuskan akses laboratorium dibatasi saat pekerjaan sedang berlangsung. Praktik *biosecurity* laboratorium memastikan bahwa akses ke fasilitas laboratorium dan bahan biologis dibatasi dan dikendalikan seperlunya. Fasilitas harus memiliki mekanisme pelaporan mengenai setiap perilaku/insiden untuk mengurangi kekhawatiran terhadap ancaman dalam hal keamanan hayati laboratorium. Inventarisasi atau proses manajemen untuk mengontrol dan melacak sediaan biologis atau bahan sensitif lainnya juga merupakan komponen dari *biosafety* dan *biosecurity*. Pengiriman bahan biologis infeksius yang sesuai dengan prosedur pengemasan, penahanan, dan pengangkutan yang aman merupakan bagian dari *biosafety* laboratorium. *Biosecurity* laboratorium memastikan bahwa pengiriman dikendalikan, dilacak dan didokumentasikan sesuai dengan potensi risiko. *Biosafety* dan *biosecurity* harus melibatkan petugas laboratorium dalam pengembangan praktik dan prosedur yang memenuhi tujuan program *biosafety* dan *biosecurity* laboratorium tetapi tidak menghalangi kegiatan penelitian atau klinis/ diagnostik. Keberhasilan *biosafety* dan *biosecurity* bergantung pada budaya laboratorium yang memahami dan menerima alasan kenapa program *biosafety* dan *biosecurity* laboratorium perlu dilakukan serta adanya pengawasan manajemen laboratorium dalam pelaksanaannya.

Dalam beberapa kasus, praktik *biosecurity* laboratorium mungkin bertentangan dengan praktik *biosafety*, yang mengharuskan staf dan manajemen untuk membuat kebijakan yang mengakomodasi kedua rangkaian tujuan misalnya terkait penandaan. Praktik *biosafety* standar mengharuskan papan nama dipasang di pintu laboratorium untuk memperingatkan orang-orang tentang bahaya yang mungkin terdapat di dalam laboratorium. Tanda biohazard biasanya mencakup nama agen, bahaya spesifik, dan tindakan pencegahan (misalnya APD) yang terkait dengan penggunaan atau penanganan agen dan informasi kontak yang dapat dihubungi. Praktik tersebut mungkin bertentangan dengan tujuan keamanan. Oleh karena itu, pertimbangan *biosafety* dan *biosecurity* laboratorium harus seimbang dan proporsional dengan risiko yang teridentifikasi saat membuat kebijakan institusi. Solusi alternatif dapat dikembangkan dan diterapkan untuk memenuhi kedua rangkaian tujuan *biosafety* dan *biosecurity*. (CDC, 2020. 6th Edition).

a. Biosafety (Keselamatan dan Kesehatan Kerja) di Laboratorium

Pemeriksaan laboratorium TBC memiliki risiko penularan infeksi dan kemungkinan kecelakaan kerja, luka bakar, luka tusuk, paparan bahan kimia baik bagi petugas yang bekerja di laboratorium maupun masyarakat dan lingkungan sekitar. *M. tbc* dapat ditemukan pada sputum, cairan bilas lambung, cairan serebrospinal, dan berbagai jaringan. Paparan aerosol di laboratorium merupakan bahaya paling utama yang harus diperhatikan. Aerosolisasi dapat terjadi pada saat pembuatan sediaan apus, pengerjaan biakan dan uji kepekaan, proses awal pemeriksaan biomolekuler dan pembuatan sediaan potong beku. Meskipun dosis infeksi *M. tbc* rendah (ID 50 <10 basil), sputum dan contoh uji klinis lain dari terduga atau pasien TBC harus dianggap sebagai bahan infeksius dan diperlakukan dengan benar. Sebagian kecil infeksi *M. tbc* ditularkan melalui makanan minuman yang tercemar dan inokulasi langsung ke dalam jaringan melalui mikrolesi dan makrolesi. Komponen yang berperan pada *biosafety* laboratorium TBC yaitu: infrastruktur laboratorium, peralatan, bahan yang dipakai, proses dan keterampilan kerja serta pengelolaan limbah laboratorium TBC.

Laboratorium harus memiliki peraturan dan pedoman keselamatan serta keamanan kerja yang menyeluruh serta fasilitas pendukung pelaksanaan. Prinsip *biosafety* di laboratorium bertujuan untuk melindungi petugas yang bekerja di laboratorium dan masyarakat dari risiko terkena gangguan kesehatan yang ditimbulkan dari laboratorium. Fasilitas laboratorium berdasarkan tingkat *biosafety* dapat dibedakan menjadi *biosafety* level 1 (Basic), *biosafety* level 2 (Basic), *biosafety* level 3 (*containment*) dan *biosafety* level 4 (*maximum containment*). Penentuan tingkat *biosafety* tersebut berdasarkan rancangan, konstruksi, fasilitas *containment*, dan Standar Prosedur Operasional (Kemenkes RI, 2015a).

Risiko yang dihadapi lebih besar pada saat melakukan uji kepekaan dibandingkan ketika melakukan pemeriksaan biakan. Oleh karena itu laboratorium uji kepekaan TBC setidaknya sudah memenuhi standar BSL 2 dan menerapkan praktek laboratorium BSL 3 yang dalam buku ini selanjutnya disebut sebagai laboratorium BSL2+.

Tabel 3. Tingkat keamanan dan risiko laboratorium

Grup Risiko	Tingkat Biosafety	Tipe laboratorium	Praktik Laboratorium	Perlengkapan Biosafety
1	<i>Basic – Biosafety Level 1</i>	Pelatihan dasar, penelitian	Teknik mikrobiologi yang baik (<i>Good Microbiological Techniques/GMT</i>)	<i>Open bench</i>
2	<i>Basic – Biosafety Level 2</i>	Layanan kesehatan primer, layanan diagnostik, penelitian	Teknik mikrobiologi yang baik (GMT) ditambah alat pelindung diri (APD), tanda <i>biohazard</i>	<i>Open bench</i> ditambah BSC untuk spesimen dengan potensi aerosol
3	<i>Containment – Biosafety Level 3</i>	Layanan diagnostik khusus, akses terkontrol/terbatas	Sama dengan BSL level 2, ditambahkan APD khusus, dan aliran udara terarah	BSC dan/ atau perangkat penting lainnya untuk semua kegiatan
4	<i>Maximum containment – Biosafety Level 4</i>	Unit patogen berbahaya	BSL level 3 plus dengan pintu masuk <i>airlock</i> , <i>shower</i> sebelum keluar lab, tempat pembuangan khusus	BSC kelas III atau tekanan positif sesuai dengan BSC kelas II; autoklaf sebelum di bawa keluar lab; saringan udara

Good Microbiological Techniques (GMT) adalah teknik praktik laboratorium dasar yang berlaku untuk semua jenis kegiatan laboratorium dengan agen biologis, termasuk perilaku umum dan teknik aseptik yang harus selalu diperhatikan di laboratorium. Teknik ini berfungsi untuk melindungi personel laboratorium dan masyarakat dari infeksi, mencegah kontaminasi lingkungan, dan memberikan perlindungan terhadap bahan kerja yang digunakan.

Tabel 4. Perbandingan fasilitas laboratorium pada masing-masing *biosafety level*

Kriteria	<i>Biosafety Level</i>			
	1	2	3	4
Lokasi ^a laboratorium (isolasi ruangan)	Tidak	Tidak	Ya	Ya
Ruangan dapat didekontaminasi (<i>sealable</i>)	Tidak	Tidak	Ya	Ya
Ventilasi:				
- <i>inward airflow</i>	Tidak	Sebaiknya ya	Ya	Ya
- <i>controlled ventilating system</i>	Tidak	Sebaiknya ya	Ya	Ya
- <i>HEPA-filtered air exhaust</i>	Tidak	Tidak	Ya/Tidak ^b	Ya
Pintu masuk ganda	Tidak	Tidak	Ya	Ya
<i>Airlock</i>	Tidak	Tidak	Tidak	Ya
<i>Airlock</i> dengan <i>shower</i>	Tidak	Tidak	Tidak	Ya
<i>Anteroom</i>	Tidak	Tidak	Ya	-
<i>Anteroom</i> dengan <i>shower</i>	Tidak	Tidak	Ya/Tidak ^c	Tidak
<i>Effluent treatment</i>	Tidak	Tidak	Ya/Tidak ^c	Ya
Autoklaf:				
- <i>on site</i>	Tidak	Sebaiknya ya	Ya	Ya
- ruangan laboratorium	Tidak	Tidak	Sebaiknya ya	Ya
- <i>double-ended</i>	Tidak	Tidak	Sebaiknya ya	Ya
BSC (<i>Biological Safety Cabinet</i>)	Tidak	Sebaiknya ya	Ya	Ya
Ketersediaan sarana pendukung untuk memonitor keselamatan petugas laboratorium ^d	Tidak	Tidak	Sebaiknya ya	Ya

Keterangan:

^a Posisi laboratorium berada di tempat yang berbeda dari lalu-lintas kegiatan umum lainnya, dan terletak di posisi terpisah dengan lingkungan di sekitarnya.

^b Posisi pembuangan penyaring udara HEPA (*HEPA-filtered air exhaust*) tergantung dengan posisi pembuangan udara (*exhaust*).

- c Penggunaannya tergantung dengan agen biologis dan patogenitas yang dikerjakan di laboratorium.
- d Sarana yang digunakan dapat berupa komunikasi satu atau dua arah, diantaranya pemasangan jendela, layar monitor satu arah, dan telepon intercom/walkie talkie untuk komunikasi dua arah.

Tabel 5. Kriteria kebutuhan laboratorium biakan dan uji kepekaan Tuberkulosis

No	Kriteria	Lab biakan	Lab biakan & uji kepekaan
1	Ruangan laboratorium yang cukup luas untuk bekerja dan terpisah dengan area publik dalam gedung	Ya	Ya
2	Pemisahan ruangan infeksius dan non infeksius dengan diberikan label di setiap pintu ruangan.	Ya	Ya
3	Ruang depan untuk memisahkan bangunan luar dengan laboratorium	Ya	Ya
4	Pintu yang dapat di kunci/akses terbatas	Ya	Ya
5	Pintu masuk ganda (akses ke <i>anteroom</i>)	Ya	Ya
6	Ruangan kedap udara dan dapat didekontaminasi	Ya	Ya
7	Sistem ventilasi:		
	- Aliran udara masuk	Ya/Tidak	Ya
	- Sistem ventilasi terkontrol	Ya/Tidak	Ya
	- Pembuangan udara dengan filter HEPA	Tidak	Ya/Tidak
	- Sistem redundansi (perlindungan jika terjadi kegagalan sistem)	Tidak	Ya
8	Aliran udara searah dengan filter udara pada exhaust/HVAC System	Ya/Tidak	Ya
9	Wastafel cuci tangan di dekat pintu keluar ruangan laboratorium	Ya	Ya
10	Wastafel untuk pembuangan limbah cair	Ya	Ya
11	BSC (<i>Biological Safety Cabinet</i>) min kelas IIA dengan NSF/ EN standard	Ya	Ya
12	Autoklaf limbah di dalam laboratorium	Ya	Ya
13	Perlengkapan K3 (eyewash, shower, kit tumpahan, emergency lamp)	Ya	Ya
14	Sistem komunikasi (interkom/Internet)	Ya	Ya

Fasilitas laboratorium TBC dapat diklasifikasikan menjadi tiga tingkat risiko yaitu risiko rendah, sedang dan tinggi. Klasifikasi tersebut berdasarkan aktivitas yang dilakukan dan risiko untuk menghasilkan aerosol yang infeksius serta konsentrasi partikel infeksius sebagaimana yang dijelaskan pada Tabel 6 di bawah ini.

Tabel 6. Tingkat risiko laboratorium TBC berdasarkan jenis kegiatan laboratorium dan penilaian risiko untuk laboratorium Tuberkulosis (TBC)

Tingkat risiko	Kegiatan pemeriksaan	Penilaian risiko
Risiko rendah	Pemeriksaan mikroskopis; penyiapan spesimen untuk pemeriksaan TCM	Risiko rendah untuk menghasilkan aerosol yang infeksius dari spesimen; konsentrasi partikel infeksius rendah
Risiko sedang	Pemrosesan spesimen untuk inokulasi biakan, Uji kepekaan dengan metode langsung (misalnya, Uji LPA dari spesimen dahak)	Risiko sedang untuk menghasilkan aerosol yang infeksius dari spesimen; konsentrasi partikel infeksius rendah
Risiko tinggi	Pemrosesan untuk biakan dan uji identifikasi; Uji Kepekaan atau pemeriksaan LPA dari isolat	Risiko tinggi untuk menghasilkan aerosol yang infeksius; konsentrasi partikel infeksius tinggi

(WHO, Tuberculosis Laboratory Biosafety Manual, 2012)

Probabilitas aerosol yang dihasilkan merupakan faktor penting yang perlu dipertimbangkan dalam menentukan tingkat risiko dan langkah-langkah mitigasi atau pengendalian yang diperlukan. Pemrosesan spesimen untuk inokulasi biakan, uji kepekaan atau pemeriksaan *Line Probe Assay* (LPA) memiliki risiko untuk menghasilkan aerosol, bila dibandingkan dengan teknik lain meskipun teknik mikrobiologi yang baik sudah dilakukan. Oleh karena itu, semua pengerjaan pemeriksaan ini harus dilakukan di dalam BSC. Selain itu, uji kepekaan atau LPA dari isolat biakan dengan konsentrasi kuman yang tinggi, berisiko tinggi untuk terbentuknya aerosol; sehingga harus dilakukan di BSC dalam laboratorium TBC yang memenuhi persyaratan untuk risiko tinggi (*TB-containment Laboratory*).

Berikut adalah hal-hal yang perlu diperhatikan untuk laboratorium biakan dan uji kepekaan *M. tbc*, yaitu:

1) Desain laboratorium Tuberkulosis

Kegiatan laboratorium untuk biakan dan uji kepekaan *M. tbc* harus mengikuti standar keamanan yang ada. Menurut pedoman WHO, terdapat beberapa ketentuan pada keamanan tingkat 3 (Biofafety Level 3), yakni:

- a) Sebelum masuk ruang laboratorium, sebaiknya terdapat dua ruang pemisah, yaitu *vestibulum* (ruang bersih, tempat alat pelindung diri bersih dikenakan) dan *anteroom* (ruang bersih, tempat alat pelindung diri dilepaskan).

- b) Pintu ruang antara dapat menutup otomatis dan *interlocking*, sehingga hanya satu pintu yang terbuka pada suatu saat.
- c) Permukaan dinding, lantai dan atap harus kedap air dan mudah dibersihkan.
- d) Ruang laboratorium harus tahan terhadap desinfektan. Pipa udara harus tahan terhadap dekontaminasi dengan gas.
- e) Jendela selalu ditutup, terbuat dari kaca dan kedap udara-
- f) Di dekat pintu keluar ruang laboratorium disediakan tempat cuci tangan yang dilengkapi dengan pengaturan otomatis tanpa menggunakan tangan.
- g) Sistem ventilasi dibuat sedemikian rupa sehingga tidak mengalir ke dalam ruang lain dalam gedung. Sebaiknya digunakan filter *high efficiency particulate air* (HEPA), sehingga udara setelah bersih dapat dialirkan kembali di dalam ruang laboratorium. Bila udara dari laboratorium (selain dari BSC) akan dialirkan ke arah luar gedung harus tidak mengenai bagian lain dalam gedung dan terpisah dari udara masuk. Ventilasi dan *air-conditioning* (AC) dapat dipasang dengan menjaga agar tekanan udara negatif tetap ada di laboratorium. Sistem pengaliran udara dalam laboratorium tidak boleh mengganggu tirai aliran udara BSC.
- h) Semua filter HEPA harus dipasang dengan memungkinkan bagi dekontaminasi menggunakan gas dan mudah di cek.
- i) *Biological Safety Cabinet* (BSC) sebaiknya tidak ditempatkan di tempat untuk lalu lalang petugas laboratorium dan tidak menghadap ke pintu dan sistem ventilasi.

Ruang laboratorium harus menjamin keamanan petugas dan orang lain di sekitarnya dari spesimen dan isolat yang ditangani. Infeksi oleh *M. tbc* bersifat *airborne* melalui mikrodroplet, maka pengaturan aliran udara menjadi sangat penting. Udara harus mengalir dari area bersih ke area kotor/ tercemar. Udara yang dikeluarkan dari laboratorium ke lingkungan sebaiknya telah melalui filter bakteri dengan arah menjauhi tempat berkumpul orang banyak, pemukiman dan lalu lalang.

Sirkulasi udara di laboratorium harus dilakukan melalui pertukaran udara minimal 6 (enam) sampai 12 (dua belas) kali per jam, dengan cara ini 99 % partikel akan dibuang dalam 30-45 menit. Resiko infeksi akan sangat dikurangi jika pengerjaan spesimen dan isolat dilakukan dalam *Bio Safety Cabinet* (BSC) dikerjakan sesuai dengan baku praktek laboratorium minimal untuk baku praktek laboratorium dengan tingkat keamanan 3 (tiga) (Biosafety Level 3).

Berikut beberapa persyaratan yang harus dipenuhi oleh laboratorium biakan dan uji kepekaan TBC.

- a) Lantai
Tidak mempunyai sambungan, dengan demikian tidak memakai bahan keramik. Sebaiknya memakai bahan epoksi yang tahan asam dan basa kuat. Pertemuan lantai dan dinding tidak bersudut.
- b) Dinding
Terbuat dari bahan yang mudah dibersihkan, permukaan rata, cat dinding berwarna terang, tidak mengkilat. Pertemuan antar dinding tidak bersudut agar mudah dibersihkan.
- c) *Exhauster*
Ditempatkan di area kotor, berlawanan dengan *air conditioner* (AC) dan mempunyai kapasitas minimal 23.6 liter per detik. Udara yang dikeluarkan dari laboratorium ke lingkungan sebaiknya telah melalui filter bakteri dengan arah menjauhi tempat berkumpul orang banyak, pemukiman dan lalu lalang.
- d) *Air condition*
Daya disesuaikan dengan luasan ruang. Penempatan AC harus memperhatikan posisi teknisi saat bekerja dan tidak mengganggu tirai udara *BSC*.
- e) Pintu
Dilengkapi dengan alat yang dapat otomatis menutup pintu, dibuat dari bahan yang mudah dibersihkan dan memudahkan evakuasi dalam keadaan darurat. Bila ruang laboratorium TBC terletak di lantai atas, maka tangga harus aman untuk dilalui orang (pegangan pada kedua sisi, tidak licin, ruang tangga terang dan dapat dilalui paling sedikit oleh 2 orang secara berdampingan). Sebaiknya ruang laboratorium memiliki pintu darurat atau ada bagian dinding yang dapat dipakai sebagai jalan keluar dalam keadaan darurat.
- f) Pasokan listrik
Harus tersedia 24 jam, karena itu harus dilengkapi dengan generator listrik yang dapat berfungsi secara otomatis dengan daya yang mencukupi untuk alat-alat yang harus selalu operasional (*deep freezer, incubator, refrigerator*).
- g) Pasokan air
Harus tersedia dengan kualitas baik dan kuantitas yang cukup.
- h) Bak cuci tangan
Diletakkan di dekat pintu, dilengkapi dengan kran yang dibuka/tutup dengan siku atau kaki atau *sensored outlet*.
- i) Bak cuci alat
Bak ini harus cukup besar dan dalam untuk menampung alat-alat yang sedang dicuci (panjang 100 cm, lebar 75 cm, dalam 50 cm), dibuat dari bahan yang kuat agar tidak mudah bocor (porselin, stainless), permukaan rata dan mudah dibersihkan.
- j) Bak pewarnaan
Bak ini khusus dipakai untuk proses pewarnaan sediaan BTA. Kedalaman bak sedemikian rupa sehingga mencegah percikan air keluar

(30-50 cm). Dibuat dari bahan yang tidak mudah bocor, kuat dan mudah dibersihkan dengan permukaan yang rata tanpa sambungan dan tidak bersudut.

k) *Shower* dan *eye wash*

Alat ini harus ditempatkan di ruang kerja laboratorium TBC, digunakan untuk melakukan netralisasi bila terjadi kecelakaan kerja berupa percikan larutan asam atau basa kuat dan bahan infeksius. Karena biasanya dalam laboratorium tidak digunakan asam atau basa kuat dalam jumlah banyak, *shower* tidak merupakan keharusan.

l) Meja kerja

Dibuat permanen dari beton, tinggi 75 cm dari lantai, permukaan rata, tidak mempunyai sambungan, sebaiknya dilapisi epoksi.

m) Kursi

Rangka terbuat dari bahan logam yang tidak mudah berkarat dan dudukan dari bahan yang mudah dibersihkan dan tidak menyerap cairan (plastik/kulit), bersifat ergonomik.

n) Lemari penyimpanan bahan media dan reagensia

Dibuat dari logam yang tidak mudah berkarat dan kaca.

o) Tekanan negatif

Pada laboratorium biakan tidak diwajibkan mempunyai tekanan negatif, namun harus ada pengaturan udara sehingga pertukaran udara 6 – 12 kali per jam. Ruang utama laboratorium harus bertekanan negatif dibandingkan dengan ruang anteroom. Tekanan negatif dalam ruang utama laboratorium menyebabkan udara anteroom dapat masuk ke dalam laboratorium utama.

Fungsi tekanan negatif tersebut adalah untuk menjaga keamanan lingkungan di sekitar laboratorium dan kemungkinan kontaminasi yang berasal dari dalam laboratorium.

Secara umum pembagian ruangan laboratorium TBC dapat dibedakan menjadi 3 (tiga) ruangan yaitu:

a). Ruang vestibulum (*weather vestibule*)

Ruang vestibulum merupakan merupakan pintu masuk pertama dalam laboratorium yang menghubungkan ruangan lain misalnya koridor dengan anteroom. Tekanan pada ruangan *weather vestibule* bersifat positif terhadap ruangan anteroom (GLI, 2019).

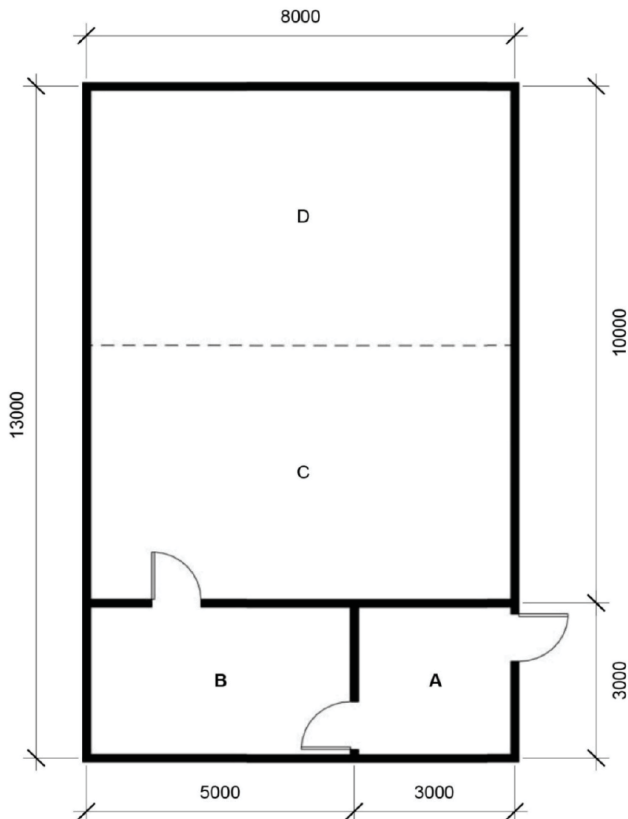
b). Anteroom

Anteroom merupakan ruangan perantara antara vestibulum dan ruangan utama laboratorium. Anteroom bertekanan negatif terhadap vestibulum dan bertekanan positif terhadap ruangan utama laboratorium (GLI 2019). Anteroom merupakan ruangan tambahan pemisah dan keamanan antara ruangan laboratorium utama TBC dan ruangan luar atau laboratorium umum. Anteroom biasanya juga sebagai area ganti pakaian, di mana gaun laboratorium dan APD lainnya yang akan digunakan di dalam laboratorium dipakai. Ruang ini menyediakan tempat bagi personel

untuk melepas dan menyimpan pakaian pribadi sebelum mengenakan pakaian laboratorium khusus yang mungkin berpotensi terkontaminasi setelah berada di laboratorium. Pakaian laboratorium harus disimpan secara terpisah dari pakaian pribadi. Anteroom juga dilengkapi dengan wastafel untuk mencuci tangan dan dapat juga digunakan sebagai ruang penyimpanan untuk Laboratorium (WHO, 2020. *Laboratory design and maintenance*)

- c). Ruang utama laboratorium.
Ruang dimana prosedur pemeriksaan laboratorium dilakukan yang dapat dibagi menjadi area bersih dan area kotor.

Pembagian ruangan laboratorium yang berbentuk memanjang dapat dilakukan seperti contoh gambar berikut:
(Kemenkes RI, 2015b)



Gambar 1. Contoh denah ruangan laboratorium biakan dan uji kepekaan *M. tbc*

Keterangan gambar:

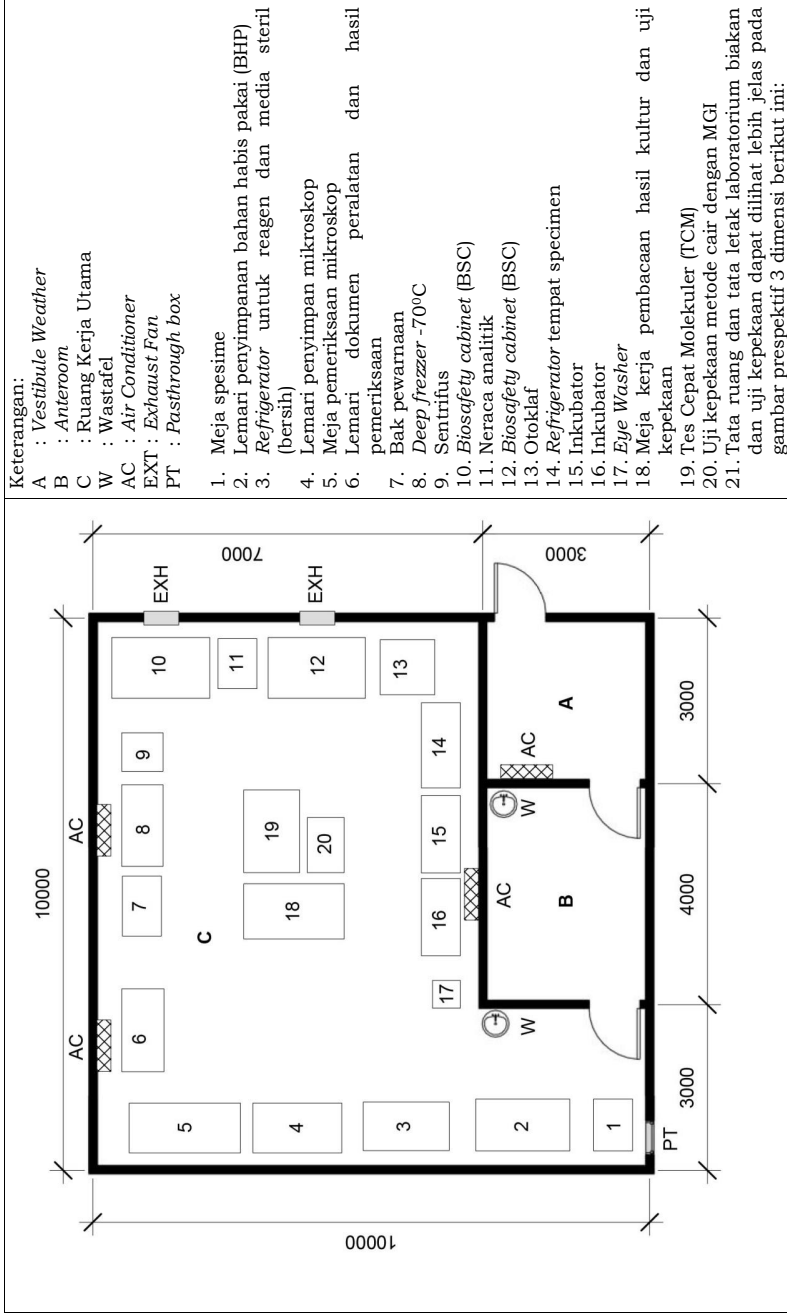
A : Vestibulum (*Vestibule weather*)

B : *Anteroom*

C : Area bersih di ruangan utama laboratorium

D : Area kotor di ruangan utama laboratorium

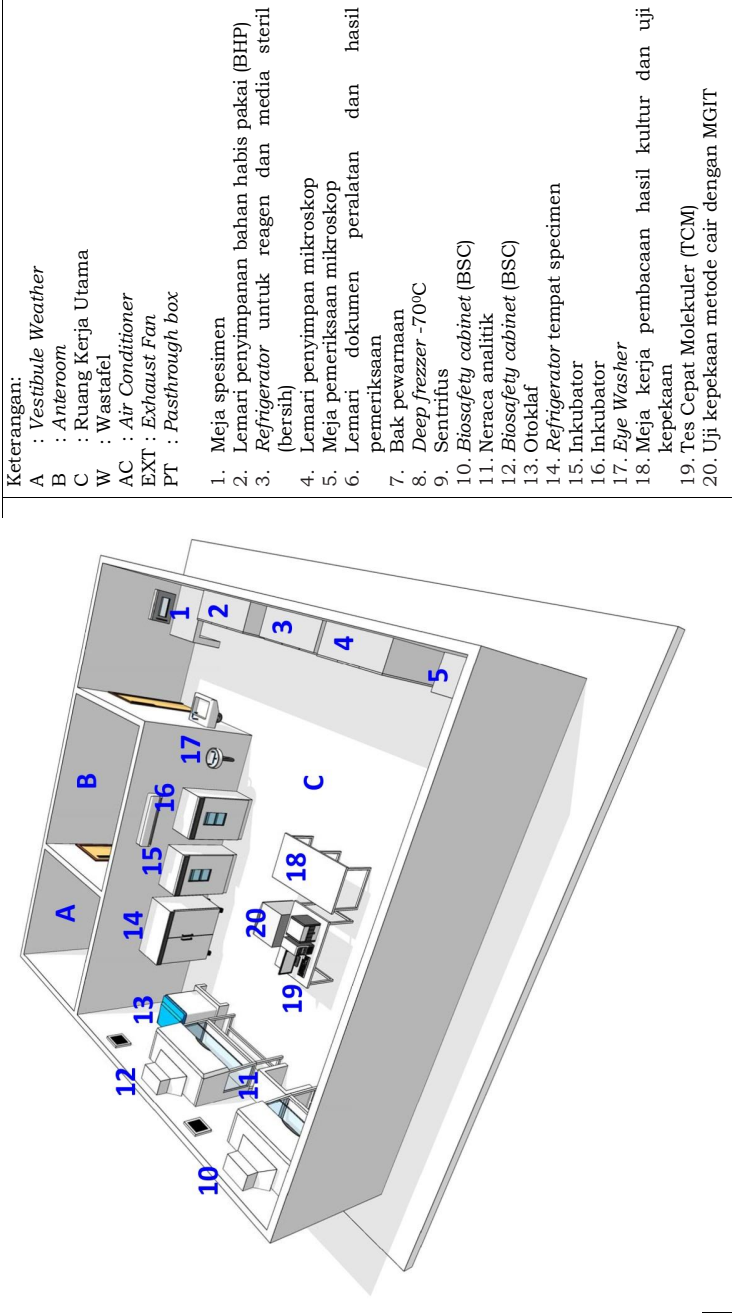
Catatan: Modifikasi rancangan ruang laboratorium dapat saja dilakukan sepanjang kaidah-kaidah keselamatan dan kerja di laboratorium diperhatikan.



Gambar 2. Contoh denah laboratorium untuk biakan dan uji kepekaan *M. tb*c berikut dengan penempatan peralatan

	<p>Keterangan:</p> <p>A : <i>Vestibule Weather</i> B : <i>Anteroom</i> C : Ruang Kerja Utama W : Wastafel AC : <i>Air Conditioner</i> EXT : <i>Exhaust Fan</i> PT : <i>Passthrough box</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Meja spesimen 2. Lemari penyimpanan bahan habis pakai (BHP) 3. <i>Refrigerator</i> untuk reagen dan media steril (bersih) 4. Lemari penyimpanan mikroskop 5. Meja pemeriksaan mikroskop 6. Lemari dokumen peralatan dan hasil pemeriksaan 7. Bak pewarnaan 8. <i>Deep freezer -70°C</i> 9. Sentrifus 10. <i>Biosafety cabinet</i> (BSC) 11. Neraca analitik 12. <i>Biosafety cabinet</i> (BSC) 13. Otoklaf 14. <i>Refrigerator</i> tempat specimen 15. Inkubator 16. Inkubator 17. <i>Eye Washer</i> 18. Meja kerja pembacaan hasil kultur dan uji kepekaan 19. Tes Cepat Molekuler (TCM) 20. Uji kepekaan metode cair dengan MGIT
--	---

Gambar 3. Tampak kanan atas untuk contoh ruangan laboratorium biakan dan uji kepekaan *M. tuberculosis*



Gambar 4. Tampak belakang atas untuk contoh ruangan laboratorium biakan dan uji kepekaan *M. tbc*

Keterangan:

- A : *Vestibule Weather*
- B : *Anteroom*
- C : Ruang Kerja Utama
- W : *Wastafel*
- AC : *Air Conditioner*
- EXT : *Exhaust Fan*
- PT : *Pastthrough box*

1. Meja spesimen
2. Lemari penyimpanan bahan habis pakai (BHP)
3. *Refrigerator* untuk reagen dan media steril (bersih)
4. Lemari penyimpanan mikroskop
5. Meja pemeriksaan mikroskop
Lemari dokumen peralatan dan hasil pemeriksaan
7. Bak pewarnaan
8. *Deep freezer -70°C*
9. Sentrifus
10. *Biosafety cabinet (BSC)*
11. Neraca analitik
12. *Biosafety cabinet (BSC)*
13. Otoklaf
14. *Refrigerator* tempat specimen
15. Inkubator
16. Inkubator
17. *Eye Washer*
18. Meja kerja pembacaan hasil kultur dan uji kepekaan
19. Tes Cepat Molekuler (TCM)
20. Uji kepekaan metode cair dengan MGIT



Gambar 5. Tampak kiri atas untuk contoh ruangan laboratorium biakan dan uji kepekaan *M. tuberculosis*

2) Prosedur Laboratorium

Laboratorium harus memiliki peraturan dan pedoman *biosafety* yang komprehensif. Keselamatan kerja di laboratorium merupakan tanggung jawab semua anggota baik supervisor maupun pekerja laboratorium. Perlu dibentuk komite keselamatan kerja yang bertanggungjawab mengembangkan kebijakan institusional tentang keselamatan kerja, melakukan penilaian terhadap resiko kerja dan memastikan pedoman praktek kerja di laboratorium dilaksanakan oleh setiap pekerja laboratorium.

Laboratorium biakan dan uji kepekaan harus ditandai sebagai lokasi yang infeksius dan harus terpasang lambang biohazard (Gambar 6) untuk membatasi akses ke laboratorium. Tanda baku biohazard internasional yang ditempel pada Laboratorium yang menangani mikroorganisme beresiko kelas 2 atau di atasnya, menyebutkan tingkat keamanan, penanggung jawab, alamat yang harus dihubungi bila terjadi kedaruratan.



Gambar 6. Tanda baku *biohazard* internasional

Seperti telah disebutkan diatas, penularan TBC terjadi melalui inhalasi partikel infeksius. Bahaya terjadinya partikel infeksius terutama terjadi saat pengumpulan dahak, pencampuran larutan lain dan dahak/biakan, homogenisasi, penggunaan sengkeli, pipet serta sentrifugasi.

Prosedur kerja merupakan unsur terpenting dalam keamanan di laboratorium. Tim keamanan kerja harus dibentuk untuk mengelola keamanan kerja di laboratorium. Ketentuan di bawah ini harus diketahui dan dilaksanakan oleh setiap petugas:

- a) Akses laboratorium: tanda pada gambar 6 di atas harus dipasang pada pintu masuk. Laboratorium TBC hanya boleh dimasuki oleh petugas yang telah terlatih dalam hal prosedur penanganan mikroorganisme patogen. Orang dan petugas yang tak terkait, tidak diperkenankan masuk ke dalam ruang laboratorium. Petugas kebersihan dan teknisi alat atau orang lain dengan alasan kuat hanya diperkenankan masuk setelah mendapat penjelasan, mematuhi penjelasan dari petugas laboratorium dan izin dari penanggung jawab laboratorium.

- b) Dilarang memakai perhiasan pada tangan selama bekerja. Gunakan sarung tangan jika menangani dahak dan bahan tercemar.
- c) Pekerjaan harus mengikuti prosedur tetap (Protap/SPO) yang ada dan dikerjakan hati-hati.
- d) Semua permukaan tempat kerja harus didesinfeksi tiap selesai bekerja dan segera setelah terjadi tumpahan kecil. Desinfeksi permukaan kerja segera setelah pekerjaan selesai dengan handuk/kertas yang telah dibasahi oleh larutan 5 % senyawa fenol (lysol, kresol, karbol) atau 70% etanol atau larutan natrium hipoklorit 1:100-200 (natrium hipoklorit terdapat pada larutan pemutih pakaian. Untuk membuat larutan 1:100-200 yang benar, perhatikan konsentrasi natrium hipoklorit pada label pemutih tersebut). Lantai laboratorium secara berkala (tiap hari segera setelah selesai bekerja) harus dipel dengan desinfektan.
- e) Semua limbah infeksius dan bahan lain yang tercemar harus di otoklaf atau insenerasi/ karbonisasi sebelum dibuang. Jika proses ini oleh suatu sebab menjadi tertunda maka bahan-bahan limbah tersebut harus dikemas dalam kontainer yang kedap bocor. Semua limbah infeksius dibuang sesuai dengan Protap. Barang dan bahan (berpotensi) tercemar yang tidak dipakai lagi harus segera disterilisasi dengan otoklaf, pemanasan kering atau insenerator/ *carbonizer*. Pencucian barang boleh dilakukan setelah dilakukan sterilisasi.
- f) Dilarang memakai kosmetik di dalam laboratorium. Demikian juga dengan menyimpan makanan dan minuman dalam lemari es di laboratorium.
- g) Ruang laboratorium harus selalu bersih, rapi dan bebas dari bahaya fisik (misalnya: sengatan listrik, tergelincir, dsb).
- h) Petugas harus mencuci tangan dengan sabun dan air mengalir dan selanjutnya dengan alkohol 70% atau antiseptik untuk kulit lainnya, setiap masuk ke laboratorium, selesai menangani bahan tercemar, dan setelah bekerja. Untuk mengeringkan tangan dilarang memakai handuk, pakailah pengering sekali pakai.
- i) Petugas harus menanggalkan baju laboratorium saat akan meninggalkan ruang laboratorium.
- j) Pekerjaan yang beresiko menimbulkan aerosol seperti membuka wadah, mengocok, menggerus, membuat sediaan apus, dan memipet bahan tercemar harus dilakukan dalam *BSC* dengan *blower* dinyalakan.
- k) Sentrifugasi dilakukan dengan alat *biocontained centrifuge* yang tidak memungkinkan aerosol keluar dari alat. Lakukan sentrifugasi dalam *fixed angle rotor* (sudut rotor tidak berubah pada saat dilakukan pemusingan). Dilarang menggunakan rem mesin sentrifus, biarkan berhenti sendiri.
- l) Penggunaan semprit dan jarum harus dibatasi. Hanya semprit dengan jarum yang dapat “dikunci”/berulir yang boleh dipakai. Jarum dilarang dibengkokkan, dilepas dari sempritnya ataupun ditutup ulang. Semprit dan jarum yang telah dipakai harus diletakkan pada wadah tahan tusukan dan disterilisasi dengan otoklaf atau insenerator. Sebelum disterilkan, jarum dapat direndam dalam desinfektan selama 24 jam.
- m) Sebelum memakai alat, selalu perhatikan dan ikuti petunjuk pemakaian alat tersebut.

- n) Jangan membuka langsung wadah yang baru saja dikocok atau disentrifugasi, biarkan dahulu selama minimal 10 menit.

3) Alat Pelindung Diri (APD)

Alat pelindung diri memberikan penghalang fisik untuk meminimalkan risiko paparan aerosol, percikan dan inokulasi yang tidak disengaja. APD harus dipakai setiap saat di dalam laboratorium. APD yang tidak pas, tidak sesuai, atau tidak dipakai dengan benar akan mengurangi keefektifannya dan dapat menciptakan rasa aman yang palsu. Pilihan APD tergantung pada jenis pekerjaan yang dilakukan dan risiko yang harus dikurangi. Semua APD harus disediakan oleh laboratorium. Petugas laboratorium tidak boleh membawa pulang APD apa pun untuk dicuci, dibuang, atau untuk digunakan di luar Laboratorium (GLI, Laboratory Safety, 2019).

Berikut diantara alat pelindung diri yang digunakan di laboratorium biakan dan uji kepekaan TBC:

a) Gaun Laboratorium

Gaun laboratorium dengan ikatan di bagian belakang (bukaan belakang) dan memberikan perlindungan di bagian depan. Gaun harus diautoklaf (121°C selama 15 menit) sebelum dibawa keluar untuk dicuci.

Setidaknya harus ada tiga gaun yang tersedia untuk setiap petugas laboratorium TBC.

- (1) Gaun yang sedang digunakan
- (2) Gaun yang sedang dicuci
- (3) Gaun yang siap digunakan

Gaun harus diganti setiap minggu atau setelah terjadi tumpahan. Gaun harus tersedia dalam ukuran kecil, sedang, dan besar. Berikut hal yang harus diperhatikan untuk gaun laboratorium biakan dan uji kepekaan

- (1) Ikatan di leher dan pinggang
- (2) Menutup penuh di bagian depan
- (3) Manset elastis minimal 30 mm
- (4) Cukup panjang sehingga gaun menutupi pangkuan saat duduk
- (5) Bahan yang tidak menyerap

b) Sarung tangan (*gloves*)

Beberapa pasang sarung tangan akan digunakan setiap hari sehingga persediaan yang cukup harus tersedia. Sarung tangan harus dipakai untuk semua prosedur yang melibatkan kontak dengan spesimen atau benda/alat laboratorium yang digunakan penanganan spesimen atau biakan. Reaksi alergi seperti ruam kulit (dermatitis) dan reaksi hipersensitivitas dapat terjadi pada petugas Laboratorium yang mengenakan sarung tangan lateks (bubuk dan non-bubuk). Oleh karena itu sebagai alternatif dapat menggunakan bahan sarung tangan vinil dan nitril yang jarang menyebabkan reaksi alergi.

Jangan membawa sarung tangan di luar Laboratorium dan jangan memakai kembali sarung tangan bekas. Ukuran sarung tangan yang

berbeda harus tersedia (kecil, sedang, besar). Sarung tangan yang tidak pas akan mengurangi ketangkasan jari dan meningkatkan risiko kontaminasi sarung tangan dan kecelakaan kerja.

c) Respirator

Respirator dan masker bedah tidaklah sama. Masker bedah tidak menyediakan perlindungan pernapasan yang efektif dari aerosol dan oleh karena itu tidak disarankan untuk digunakan dilaboratorium. Sementara respirator dapat menyaring >95% partikel infeksius yang berukuran lebih dari 0,2 μm . Respirator N95 dan FFP2 memenuhi persyaratan dan merupakan perangkat sekali pakai yang ringan yang menutupi hidung dan mulut. Respirator biasanya tidak diperlukan untuk bekerja di laboratorium biakan TBC. Namun harus digunakan ketika melakukan uji kepekaan. Respirator dapat digunakan kembali asalkan dipakai, disimpan dan dirawat dengan benar.

d) Pelindung mata dan wajah

Pemilihan peralatan untuk melindungi mata dan wajah dari percikan ditentukan tergantung dengan jenis kegiatan laboratorium. Peralatan pelindung mata dan wajah harus tersedia di dalam laboratorium setiap saat. Kacamata pelindung terbuat dari plastik anti pecah dan melengkung di sisi-sisinya. Beberapa perisai pelindung dirancang agar sesuai dengan kacamata resep standar. Pelindung wajah terbuat dari plastik anti pecah, menutupi bagian depan dan samping wajah.

e) Alas kaki

Tidak boleh mengenakan alas kaki terbuka di laboratorium. Alas kaki harus menutupi jari kaki, bagian atas kaki, dan memiliki penutup ke bagian belakang tumit sehingga alas kaki tidak dapat dilepas dengan mudah. Alas kaki seperti sandal tidak memberikan perlindungan dari cedera fisik.

(GLI, Laboratory Safety, 2019)

4) Sumber Daya Manusia

Penguatan sumber daya manusia (SDM) penting untuk pengembangan dan penguatan jejaring laboratorium TBC. Setiap laboratorium memiliki persyaratan khusus untuk staf terlatih dan kompetensi yang diperlukan. Pembatasan jumlah tes yang dilakukan oleh teknisi berguna untuk mengurangi kesalahan dan memastikan kinerja berkualitas (GLI, Laboratory Safety, 2019). Penting untuk memastikan bahwa setiap laboratorium memiliki staf terlatih dengan jumlah cukup sehingga dapat melakukan beban kerja rutin harian secara efisien. Staf pendukung juga diperlukan untuk membantu kegiatan non-pengujian seperti persiapan media dan reagen, sterilisasi dan pemeliharaan, pengelolaan limbah, manajemen data, manajemen mutu, kegiatan penjaminan mutu dan berbagai pekerjaan administratif.

SDM disusun berdasarkan kompetensi teknis/latar belakang pendidikan dan beban kerja.

- a) Penanggung Jawab laboratorium: Dokter Spesialis Patologi Klinik/Mikrobiologi Klinik
- b) Tenaga Teknis: Tenaga Ahli Laboratorium Medik (DIII/DIV) terlatih laboratorium TBC
 - (1) Jumlah tenaga teknis untuk pembuatan media 1 orang, dibantu oleh 1 orang tenaga pekarya.
 - (2) Jumlah tenaga teknis untuk biakan dan identifikasi disesuaikan dengan beban kerja.
 - (3) Jumlah tenaga teknis untuk uji kepekaan disesuaikan dengan beban kerja.
- c) Petugas pencatatan dan pelaporan: 1 (satu) orang, minimal SLTA

Waktu yang diperlukan untuk pengujian terhadap spesimen tergantung pada pengalaman teknis. Untuk pertimbangan keselamatan dan keamanan kerja maka jumlah pemeriksaan maksimum yang dapat dilakukan oleh seorang teknisni yang terlatih dan kompeten dibatasi sebagai yang ditampilkan pada tabel 7.

Tabel 7. Perkiraan beban kerja maksimum untuk pemeriksaan biakan dan uji kepekaan yang dapat dilakukan oleh satu orang teknisni yang kompeten

Prosedur	Jumlah pemeriksaan maksimum per teknisni lab			
	Hari	Minggu	Bulan	Tahun
Pemeriksaan biakan (media padat)	40	200	800	9.200
Pemeriksaan biakan (media cair)	40	200	800	9.200
Uji kepekaan (media padat)	20	100	400	4.600
Uji kepekaan (media cair)	20	100	400	4.600

Keterangan :

- Jumlah pemeriksaan maksimum tersebut hanya merupakan indikasi dan tergantung pada:
 - Sumber daya manusia, pengalaman dan keahlian teknisni laboratorium.
 - Infrastruktur laboratorium dan tata letak.
 - Peralatan.
 - Keandalan utilitas seperti listrik dan air.
- Beban kerja per tahun didasarkan pada 230 hari kerja

(GLI, Laboratory Safety, 2019)

5) Pekerjaan Laboratorium Khusus Yang Berisiko Infeksi

Berikut contoh beberapa prosedur di laboratorium TBC yang dapat meningkatkan risiko terinfeksi oleh *M. tbc* yang terkait dengan tingginya konsentrasi bakteri dan potensi untuk menghasilkan aerosol infeksius:

- a) Penanganan kontainer spesimen klinis
Bagian luar wadah yang digunakan untuk pengumpulan spesimen klinis sering terkontaminasi oleh *M. tbc* atau patogen udara lain. Bahkan jika tidak mungkin menghasilkan aerosol, paparan basil tuberkulum dimungkinkan. Oleh karena itu, kontainer spesimen harus ditangani dengan hati-hati dan hanya dibuka di dalam BSC.
- b) Sentrifugasi.
Cairan dapat tumpah dari tabung atau tabung sentrifugal dapat pecah, sehingga melepaskan aerosol. Sentrifus yang digunakan adalah yang dilengkapi dengan *safety buckets* yang tertutup atau *rotor* dengan cincin "O" yang tertutup sehingga aman digunakan. Wadah pengaman sentrifugal seharusnya hanya dibuka di dalam BSC.
- c) Pipet
Pipet dan pipet Pasteur khususnya cenderung menghasilkan gelembung dan membentuk aerosol. Oleh karena itu, pemipetan harus selalu dilakukan dalam BSC dan gunakan pipet sekali pakai (*disposable*). Dilarang memipet dengan mulut.
- d) Teknik homogenisasi (*vortexing, grinding, blending*).
Prosedur yang tepat untuk menghindari induksi aerosol harus dilakukan. Homogenisasi mekanik harus selalu dilakukan di dalam BSC dan bahkan masih menimbulkan risiko.
- e) Sonikasi, pemanasan spesimen (misal, ekstraksi asam nukleat)
Prosedur yang tepat harus diterapkan untuk menghindari percikan dan pembentukan aerosol.
- f) Penggunaan *loop/ose* bakteriologis
Loop/ose yang sudah mengandung spesimen infeksius tidak boleh langsung dipanaskan dalam nyala api bunsen karena risiko percikan dan pembuatan aerosol. Pembakar bunsen tidak boleh digunakan dalam BSC karena dapat mengganggu aliran udara. Penggunaan *loop/ose* disposable sangat disarankan.
- g) Transportasi dan pengiriman *strain M. tbc*
Ada aturan ketat yang harus diikuti ketika mengirim spesimen klinis, khususnya koloni *M. tbc*. Aturan transportasi ini bergantung pada pengaturan di suatu negara, antar negara atau terkait dengan transportasi udara. Hal ini menjadi tanggung jawab laboratorium untuk

pengiriman dengan mengidentifikasi peraturan yang relevan dan mengikuti dengan ketat. Penggunaan kurir khusus yang berdedikasi dalam transportasi bahan infeksius dan mengetahui semua peraturan sangat dianjurkan. Semua prosedur yang diminta harus dipenuhi oleh laboratorium pengirim untuk memastikan pengepakan yang benar.

- h) Menyimpan *strain M. tuberculosis* yaitu isolat klinis dan *strain* referensi. Harus ada prosedur lokal yang berkaitan dengan *biosafety* dan *biosecurity* untuk penyimpanan bakteri dan spesimen klinis yang mengandung bakteri. Semua *freezer*, lemari es dan lemari penyimpanan lainnya harus diberi label dengan benar, beserta nama orang yang bertanggung jawab. Akses ke *freezer* harus dibatasi untuk staf laboratorium tertentu. Stok bakian harus didaftarkan untuk mengidentifikasi penghilangan ilegal atau penghilangan yang tidak dapat dijelaskan.

6) Penanganan Limbah

Prosedur manajemen limbah harus mengikuti syarat dan regulasi baik lokal, nasional maupun internasional. Limbah adalah sesuatu yang harus dibuang. Dalam rangka meminimalkan risiko dari limbah adalah bahan infeksius harus didekontaminasi, diinsenerasi sebelum dikubur atau diotoklaf. Kantong pembuang dapat digunakan untuk memisahkan limbah, misalnya bahan gelas, instrumen dan bahan lain yang dapat digunakan kembali atau didaur ulang.

- a) Limbah infeksius dan non infeksius, baik padat maupun cair harus dikumpulkan pada tempat terpisah dalam wadah yang tidak bocor. Wadah untuk limbah tajam harus kuat terhadap tusukan.
- b) Wadah spesimen dan tutupnya, kaca sediaan yang sudah tak terpakai dan limbah padat lain harus direndam dalam larutan lysol 5% atau desinfektan lain yang cocok untuk desinfeksi *M. tuberculosis* selama minimal 12 jam.
- c) Limbah cair bekas pewarnaan ditampung dalam wadah yang mengandung lysol sebelum dibuang ke saluran limbah. Limbah zat pewarna hanya dibuang ke saluran air kotor yang tak akan mencemari badan air/ sungai untuk konsumsi. Informasi lebih lanjut dapat ditanyakan kepada Badan Pengendalian Dampak Lingkungan (Bapedal) daerah masing-masing.
- d) Untuk membersihkan tumpahan dahak, petugas harus memakai sarung tangan ganda dan sepatu kedap air, selanjutnya tutupi dahak dan wadah yang pecah tersebut dengan kain atau kertas. Tuang larutan lysol 5% atau desinfektan lain yang sesuai untuk *M. tuberculosis* sampai membasahi semua kertas/kain dan biarkan selama 2 jam dalam keadaan basah. Lepas sarung tangan terluar dan kumpulkan bersama wadah yang pecah, kertas/kain yang dipakai tempatkan dalam wadah tertutup dan sterilkan. Pakai sarung tangan lapis kedua baru, selanjutnya pel lantai dengan desinfektan. Sepatu baru dilepas setelah alasnya diinjakkan pada kain yang dibasahi desinfektan. Jika percikan terjadi dalam BSC, jangan matikan *blower*-nya. Biarkan tetap menyala agar filter HEPA dapat membantu mengurangi cemaran dan tindakan desinfeksi dilakukan

- seperti di atas. Untuk BSC yang tutup dasarnya berpori, lakukan desinfeksi untuk tutup berpori dan setelah tutup diangkat, lakukan untuk permukaan di bawah tutup.
- e) Insenerasi merupakan cara mengolah limbah sebelum atau setelah diotoklaf. Insenerasi idealnya dilakukan pada alat dengan dua ruang bakar, di mana pada ruang bakar pertama suhu mencapai 800 °C dan pada ruang bakar kedua mencapai 1000 °C. Waktu retensi gas dalam ruang bakar kedua minimal 0,5 detik. Insenerator yang hanya memiliki satu ruang bakar kurang efektif untuk menangani bahan infeksi. Jika memakai *carbonizer* pakailah sesuai petunjuk pemakaian.
 - f) Untuk sterilisasi dengan otoklaf dibutuhkan suhu 121 °C dengan tekanan udara 1,5 sampai 2 atmosfer selama minimal 20 menit (perhitungan waktu dimulai saat suhu dan tekanan udara tersebut tercapai; jangan membuka otoklaf jika belum dingin benar dan jangan mengisi air berlebihan). Jika jumlah yang di otoklaf banyak, dianjurkan minimal 30 menit dan 45 menit untuk sterilisasi biakan. Pastikan bahwa ada ruang kosong diantara barang yang di otoklaf. Pada saat melakukan otoklaf, pastikan bahwa tidak ada wadah yang tertutup rapat. Wadah harus sedikit dilonggarkan agar uap air mudah masuk ke dalam wadah. Dianjurkan melakukan uji fungsi otoklaf secara berkala dengan indikator biologis yaitu spora bakteri *Geobacillus stearothermophilus* dan ditempatkan di bagian paling tengah dari bahan yang akan disterilkan. Jika menggunakan pemanasan kering, lakukan pada suhu 180 °C selama minimal 2 jam.
 - g) Tersedia “*spill kit*” yang berisi semua peralatan untuk menanggulangi kecelakaan kerja berupa tumpahan bahan infeksius (terdiri atas: tisu, lap tebal, forsep, desinfektan, sapu kecil dengan skop sampah yang bisa didesinfeksi, kacamata google, respirator, sarung tangan, kantong plastik). *Spill kit* harus disimpan di tempat yang mudah terjangkau, disertai dengan tulisan “*spill kit*” dan prosedur penggunaannya.
 - h) Tersedia kotak PPPK yang berisi kapas, antiseptik, plester, dan lain-lain.
- 7) Penanganan Tumpahan Infeksius
- Tumpahan limbah harus dibersihkan dengan cepat berdasarkan prosedur pembersihan tumpahan sesuai jenis limbahnya. Harus tersedia “*Spill kit*” atau kit penanggulangan tumpahan biologis.

Laboratorium penelitian biomedis dan mikrobiologi harus menyediakan “kit tumpahan biologis”. Kit tumpahan adalah alat keamanan penting untuk kerja laboratorium dengan agen mikrobiologi yang termasuk dalam BSL 2 atau di atasnya. Alat dan bahan berikut harus ada dalam kit tumpahan:

- Desinfektan (periksa tanggal kadaluwarsa setiap tahunnya).
- Forsep, sapu dan serok *autoclavable*, atau alat mekanik lain untuk menangani benda tajam.
- Kertas tisu atau bahan penyerap lainnya.
- Kantong Biohazard untuk membuang tumpahan yang terkontaminasi.
- Tempat sampah benda tajam yang kosong.
- Sarung tangan.

- Pelindung wajah (kacamata dan masker atau pelindung wajah).
- Sepatu *boots* kedap air.

Pedoman umum pada insiden tumpahan antara lain, yaitu:

- Hindari menghirup material yang terkandung di udara dan segera tinggalkan ruangan. Beritahu yang lain untuk meninggalkan ruangan.
- Tutup pintu dan pasang tanda bahaya.
- Lepas pakaian yang terkontaminasi, balik bagian yang terkontaminasi ke dalam dan masukkan ke kantong biohazard.
- Cuci semua bagian kulit yang terpapar dengan sabun dan air.
- Informasikan pada supervisor dan tim keamanan kerja

a) Pembersihan Tumpahan

- (1) Biarkan aerosol hilang/ mengendap selama setidaknya 30 menit sebelum masuk kembali laboratorium. Persiapkan alat untuk pembersihan (*spill kit*).
- (2) Kenakan alat pelindung diri (baju lab, pelindung wajah, sarung tangan lapis ganda dan sepatu *boot*). Buat demarkasi wilayah tumpahan dengan kertas tisu. Tutupi daerah yang menuju pintu keluar lab. Tutup tumpahan dengan kertas tisu yang mengandung disinfektan dan tuangkan disinfektan hati-hati di tempat tumpahan. Gunakan disinfektan yang lebih tinggi konsentrasinya karena akan terencerkan dengan tumpahan tersebut. Biarkan kontak selama 20 menit.
- (3) Ambillah jika ada benda tajam dengan forcep dan buang dalam wadah benda tajam. Tutup disinfektan dan tumpahan dengan menggunakan kertas tisu atau kain lap. Karena kemungkinan ada benda tajam dibawah kertas tisu, gunakan sapu dan serok *autoclavable* untuk membersihkan tumpahan dan letakkan dalam wadah benda tajam. Pecahan kecil gelas dapat diambil dengan menggunakan kapas atau kertas tisu yang dipegang dengan forcep. Jika tidak ada benda tajam dalam tumpahan, buang material dalam kantong otoklaf. Tanggalkan sarung tangan terluar, ganti dengan yang baru.
- (4) Bersihkan area sekitarnya (dimana mungkin tumpahan terpercik) dengan disinfektan. Gerakan pembersihan dilakukan secara sirkuler dimulai dari bagian terluar menuju ke pusat tumpahan.
- (5) Buang semua kertas tisu dan alat pelindung yang terkontaminasi dalam kantong biohazard atau kantong otoklaf.
- (6) Cucilah tangan dan area kulit yang terpapar dengan sabun cair dan air mengalir.

b) Pembersian Tumpahan di BSC

- (1) Biarkan *blower BSC* menyala dan segera mulai membersihkan.
- (2) Bersihkan cabinet dari tumpahan, tutup daerah tumpahan dengan kertas tisu atau kertas tisu yang mengandung disinfektan, jaga supaya wajah tetap dibalik kaca.

- (3) Jika perlu, genangi permukaan meja juga *drain pans* dan *catch basins* dibawah meja kerja berisi disinfektan. Pastikan katup pengering tertutup sebelum menggenangi area permukaan meja.
 - (4) Bersihkan dinding kabinet, permukaan meja dan bagian dalam kaca dengan desinfektan.
 - (5) Jika permukaan meja dan *drain pans* dan *catch basins* dibawah permukaan meja telah digenangi dengan desinfektan tuanglah disinfektan pada permukaan meja kerja. Letakkan wadah di bawah katup pengering dan keringkan disinfektan di bawah meja kerja ke wadah tersebut.
 - (6) Bersihkan area di bawah permukaan kerja untuk membersihkan sisa disinfektan.
 - (7) Cucilah tangan dan kulit yang terpapar dengan sabun dan air.
- c) Pembersihan Tumpahan Sentrifugasi
- (1) Selalu gunakan *safety buckets* yang tertutup atau *rotor* dengan cincin-O yang tertutup. Periksa cincin-O dan ganti jika sudah digunakan, pecah atau hilang. Periksa tabung atau botol apakah terdapat tanda-tanda pecah dan kelainan bentuk sebelum digunakan.
 - (2) Selalu gunakan sentrifus *biocontainment* dengan *safety bucket* yang berfungsi baik.
 - (3) Tunggu 5 menit sebelum membuka sentrifus yang mengandung material biologis yang berbahaya. Jika ditemukan tumpahan setelah sentrifus dibuka, tutup kembali secara hati-hati dan kosongkan laboratorium dan tutup pintu laboratorium. Petugas tetap diluar laboratorium setidaknya selama 30 menit. Pasang tanda di pintu laboratorium menunjukkan bahwa ada tumpahan biohazard dan dilarang masuk.
 - (4) Lepaskan semua alat pelindung diri yang terkontaminasi dan masukkan dalam kantong *biohazard*. Cuci tangan dan kulit yang terpapar dengan sabun dan air.
 - (5) Masuklah ke laboratorium setelah 30 menit dengan APD dan *spill kit*.
 - (6) Pindahkan *rotor* dan *bucket* ke dalam BSC. Rendam *rotor dan bucket* dalam alkohol 70% atau disinfektan non korosif yang efektif membunuh *M. tbc*. Biarkan setidaknya 30 menit untuk kontak. Tabung yang utuh dapat dibersihkan dan diletakkan dalam wadah yang baru. Ambil pecahan gelas dengan forsep dan buang dalam wadah benda tajam berisi disinfektan.
 - (7) Pecahan gelas yang lebih kecil dapat diambil dengan kapas atau kertas tisu yang dipegang dengan forsep. Bersihkan dengan hati-hati bagian dalam sentrifus dengan disinfektan dan biarkan mengering. Jika digunakan pemutih, lanjutkan dengan alkohol 70% untuk mencegah korosif.
 - (8) Simpan bahan terkontaminasi dan APD yang sekali pakai dalam kantong otoklaf dan lakukan otoklaf.
 - (9) Cuci tangan dengan sabun dan air bersih mengalir.

b. Biosecurity Laboratorium (Keamanan Laboratorium)

Istilah *biosecurity* memiliki banyak definisi tergantung bidangnya masing-masing misalnya di bidang pertanian, *biosecurity* berkaitan dengan kebijakan, tindakan, dan kerangka peraturan yang diterapkan untuk melindungi, mengelola, dan menanggapi risiko yang terkait dengan pangan, pertanian, kesehatan, dan lingkungan. Di beberapa negara bahkan *biosecurity* digunakan sebagai pengganti istilah *biosafety*. Terkait dengan laboratorium kesehatan istilah *biosecurity* mengacu pada tindakan yang dirancang untuk mencegah kehilangan, pencurian, atau penyalahgunaan bahan biologis, teknologi, atau informasi terkait penelitian/pemeriksaan diagnostik dari laboratorium atau fasilitas terkait Laboratorium (CDC, 2020. 6th Edition).

Security bukanlah suatu konsep baru di laboratorium yang biasa menangani agen dan bahan biologi. Kebanyakan laboratorium biomedis dan mikrobiologi tidak memiliki agen atau racun, namun tetap perlu mempertahankan kendali terhadap materi penelitian/diagnostik, melindungi informasi sensitif dan bekerja di fasilitas dengan kendali akses yang sesuai dengan potensi dampak terhadap kesehatan masyarakat, lingkungan, dan ekonomi dari agen biologis yang disimpan di laboratorium. Tindakan ini diterapkan di sebagian besar laboratorium yang menerapkan praktik manajemen laboratorium yang baik dan memiliki program *biosafety* yang sesuai (CDC, 2020. 6th Edition).

Merancang program biosekuriti laboratorium yang tidak membahayakan operasional laboratorium atau mengganggu pelaksanaan penelitian/diagnostik membutuhkan pemahaman tentang mikrobiologi dan bahan yang memerlukan perlindungan/pengawasan. Dalam beberapa kasus, praktik *biosecurity* laboratorium mungkin bertentangan dengan praktik *biosafety*. Apabila tidak ada ketentuan hukum khusus terkait program *biosecurity* laboratorium maka kesehatan dan keselamatan petugas Laboratorium serta lingkungan sekitarnya harus didahulukan daripada masalah *biosecurity* Laboratorium (CDC, 2020. 6th Edition).

Metodologi manajemen risiko dapat digunakan untuk mengidentifikasi kebutuhan program *biosecurity* laboratorium. Berikut pendekatan manajemen risiko untuk *biosecurity* laboratorium:

- a) Menetapkan agen, teknologi dan/atau informasi terkait penelitian/diagnostik yang memerlukan tindakan *biosecurity* laboratorium untuk mencegah kehilangan, pencurian, pengalihan, atau penyalahgunaan yang disengaja
- b) Memastikan bahwa tindakan perlindungan yang diberikan dan biaya yang terkait dengan perlindungan tersebut sebanding dengan risikonya.

Kebutuhan terhadap program *biosecurity* laboratorium harus didasarkan pada kemungkinan dampak dari pencurian, kehilangan, pengalihan, atau penyalahgunaan bahan yang disengaja dengan menyadari bahwa agen dan racun yang berbeda akan menimbulkan tingkat risiko yang berbeda pula. Risiko perlu diidentifikasi dan diprioritaskan serta sumber daya perlu dialokasikan berdasarkan prioritas tersebut (CDC, 2020. 6th Edition).

4. BIAKAN MYCOBACTERIUM TUBERKULOSIS COMPLEX (*M. tbc*)

Biakan, identifikasi dan uji kepekaan *M. tbc* terhadap OAT merupakan pemeriksaan *gold standard* untuk diagnosis Tuberkulosis. Sensitivitas pemeriksaan biakan lebih tinggi dibandingkan dengan mikroskopis. BTA positif membutuhkan 5.000 - 10.000 kuman per ml jika diperiksa pada 100-150 lapang pandang, sedangkan biakan positif hanya membutuhkan jumlah bakteri hidup antara 10 - 100 kuman per ml. Biakan akan meningkatkan penemuan kasus sekitar 20- 30 % dari jumlah keseluruhan kasus TBC Paru dengan BTA positif. Pemeriksaan biakan juga sangat bermanfaat untuk kasus pausibasiler (jumlah kuman sedikit) seperti pada TBC ekstra paru, TBC anak dan TBC pada kondisi sistem imun rendah (imunokompromais). Biakan juga dapat membedakan antara *M. tbc* dan NTM. Biakan merupakan suatu metode pemeriksaan yang kompleks; membutuhkan sarana, prasarana dan peralatan lebih mahal serta SDM dengan keterampilan khusus.

a. Pengumpulan Spesimen

Pengumpulan spesimen yang tepat diperlukan untuk memastikan kualitas hasil laboratorium. Spesimen bisa berupa dahak dan non dahak. Wadah yang digunakan untuk pengumpulan spesimen harus steril untuk meminimalkan kontaminasi.

1) Spesimen Dahak

Spesimen harus dikumpulkan dalam wadah steril dengan tutup rapat, transparan, berulir dan bermulut lebar (diameter 4-5 cm). Spesimen harus dahak, bukan air liur, dengan volume sekitar 2-10 ml. Dahak terbaik untuk biakan adalah dahak yang dikeluarkan pertama kali saat bangun pertama di pagi hari. Pengumpulan dahak sebaiknya di ruang terbuka yang jauh dari pemukiman atau dalam ruang khusus pengumpulan dahak.

2) Spesimen Non-Dahak

a) Spesimen cairan tubuh (cairan spinal, pleura, perikardial, sinovial, asites, darah, pus dan sumsum tulang).

Spesimen harus dikumpulkan secara aseptik dengan teknik aspirasi maupun prosedur bedah.

• Darah

Spesimen ini sebaiknya ditambah antikoagulan, antara lain sodium polianethol sulfonate (SPS), kalium oksalat steril (0,01-0,02 ml oksalat netral 10% per ml cairan), heparin (0,2 mg / ml), atau natrium sitrat (2 tetes natrium sitrat 20% untuk setiap 10 ml cairan). Atau dimasukkan ke dalam tabung isolator atau tabung biakan khusus TBC. Segera kirim spesimen ke laboratorium pada suhu ruang, jangan kirim pada suhu refrigerator atau freezer.

- Cairan serebrospinalis
Volume minimum adalah 2-3 mL dan optimal adalah 10 ml. Pengumpulan spesimen ini harus dibedakan untuk pemeriksaan kimia dan hematologi. Spesimen untuk TBC dikumpulkan pada wadah kedua, setelah penampungan pemeriksaan kimia sehingga meminimalkan kontaminasi. Segera kirim spesimen cairan serebrospinalis ke laboratorium pada suhu ruang, jangan kirim pada suhu refrigerator atau *freezer*.
- Aspirat sumsum tulang
Spesimen dikumpulkan dalam tabung isolator ukuran anak. Tabung ini harus diproses sebelum diinokulasi ke dalam media mikobakteriologi.
- Cairan pleura
Spesimen ini bersifat suboptimal. Tuberkel basil tidak berada di dalam cairan, tetapi berada di dinding pleura. Volume minimum sejumlah 20–50 ml. Jika memungkinkan, **spesimen yang direkomendasikan adalah biopsi pleura.**

- b) Urin
Urin pagi hari merupakan spesimen paling baik dan ditampung semua (bukan urin porsi tengah) dengan volume \pm 40 ml. Urin 24 jam atau urin tampung tidak bisa dilakukan biakan *M. tbc*. Sebelum penampungan urin, alat kelamin eksternal harus dicuci untuk meminimalkan kontaminasi. Setelah diterima di laboratorium, urin harus segera diproses atau disentrifugasi dan *pellet*/endapan didinginkan.
- c) Biopsi Jaringan
Pengambilan dan pengumpulan harus dilakukan secara aseptik, tanpa bahan fiksatif atau pengawet. Jika memungkinkan, kumpulkan spesimen jaringan sebanyak minimal 1 gram. Spesimen segera dikirimkan ke laboratorium. Jika pengiriman lebih dari 2 jam, maka tambahkan cairan garam isotonik steril (NaCl/Salin steril) untuk mencegah dehidrasi dan suhu dipertahankan pada 4–15 °C. **Jaringan tidak boleh disimpan di freezer.**
- d) Spesimen Pernapasan Lain
Volume sekret bronkus adalah 2-5 ml, sedangkan *bronchial alveolar lavage* (BAL) adalah 20-50 ml. *Transbronchial* dan biopsi lain yang diambil dalam kondisi steril harus tetap basah selama transportasi dengan menambahkan 0,5-1 ml NaCl 0,9% steril.
- e) Cairan Lambung
Spesimen ini biasa dikumpulkan pagi hari sebelum makan pada pasien anak yang tidak atau belum bisa mengeluarkan dahak. Cairan

dikumpulkan melalui kubah lambung dengan air distilasi steril sebanyak 25-50 mL dan suhu hangat. Volume cairan lambung yang dikumpulkan adalah maksimal 15 mL dan segera dikirim ke laboratorium pada suhu ruang. Jika proses pengiriman lebih dari 1 (satu) jam, maka spesimen dinetralkan dengan 100 mg natrium karbonat. Spesimen sebaiknya dikumpulkan 1x/hari selama 3 (tiga) hari berturut-turut.

f) Feses

Spesimen dikumpulkan secara langsung ke dalam wadah steril dan tahan bocor. Tidak perlu menggunakan medium transpor atau pengawet. Berat minimal adalah 1 gram. Spesimen segera dikirim ke laboratorium pada suhu ruang. Jika proses pengiriman lebih dari 1 jam, maka sebaiknya disimpan dan dikirim dalam suhu 2-8 °C.

g) *Swab* atau usap (usap laring, usap luka, dll)

Spesimen ini tidak optimal dan tidak disarankan untuk mendeteksi pertumbuhan *M. tbc*. Dinding *Mycobacterium* memiliki kandungan lipid tinggi, sehingga memungkinkan organisme tetap melekat di celah usap. Spesimen ini harus dihindari, kecuali pengumpulan tidak mungkin dilakukan dengan cara lain.

(Siddiqi SH, 2006).

b. Penyimpanan Spesimen

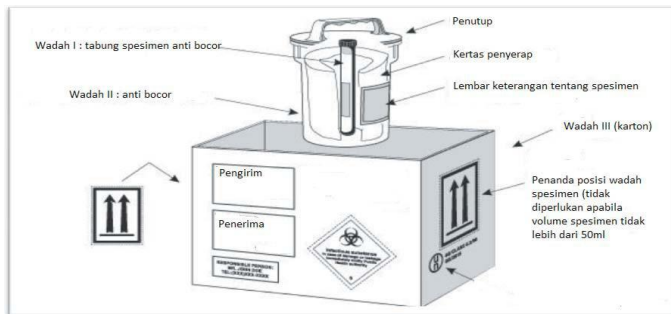
Spesimen harus dikumpulkan dengan benar dan dikirimkan secepat mungkin ke laboratorium. Setiap upaya harus dilakukan untuk meminimalkan keterlambatan pengiriman dan pengolahan spesimen. Meskipun bakteri *M. tbc* dapat bertahan hidup dalam dahak selama 1 (satu) minggu tanpa pengawet, tetapi viabilitas bakteri semakin lama akan menurun terutama spesimen pausibasiler (ekstrapulmoner). Jika spesimen tidak dapat dikirim dalam waktu 2 (dua) jam, maka spesimen sebaiknya disimpan pada suhu 2-8° C. Ketika sampai di laboratorium, maka spesimen harus didinginkan kembali sampai dapat diproses. Penundaan antara pengumpulan dan pemeriksaan biakan tidak boleh lebih dari 7 (tujuh) hari. Hal ini tidak berlaku pada spesimen darah dan cairan serebrospinalis, yang justru tidak boleh didinginkan.

c. Pengiriman Spesimen

Peraturan transportasi internasional dan domestik terhadap bahan infeksius dirancang untuk melindungi publik, pekerja, properti, dan lingkungan dari efek berbahaya akibat paparan bahan ini. Perlindungan berupa syarat pengemasan yang ketat dan ada tanda peringatan. Pengemasan harus tahan terhadap guncangan, benturan atau perubahan lain dalam transportasi, seperti tekanan, suhu udara, getaran, tumpukan, dan kelembaban. Berikan tanda peringatan berupa kertas pengiriman, label, tanda di luar kemasan,

dan informasi lain sehingga pegawai transportasi dapat mengidentifikasi materi dengan benar dan menanggapi situasi darurat.

Spesimen dan isolat harus dikirim dengan prinsip “*triple packaging*” yang terdiri dari (1) wadah utama anti bocor, (2) kemasan sekunder anti bocor dan anti pecah, dan (3) kemasan luar dengan kekuatan memadai terhadap kapasitas, berat dan penggunaan. “*Triple packaging*” dapat dilihat pada Gambar 7 di bawah ini.



Gambar 7. Prinsip “*triple packaging*” untuk pengiriman spesimen

Wadah utama (pot dahak/tabung isolat) ditutup rapat dan diberi parafilm. Wadah utama ditempatkan di wadah kedua berupa plastik seal atau toples plastik tahan pecah dan bocor dengan ukuran tepat terhadap wadah pertama sehingga dapat tetap tegak dan tidak bergoyang. Di bagian luar wadah utama diberi kertas absorbent untuk menyerap jika terjadi tumpahan dari wadah utama. Wadah kedua ditutup rapat dan di-seal. Wadah kedua dapat berupa toples dan harus dapat didekontaminasi. Wadah kedua dimasukkan dalam wadah ketiga yang terbuat dari karton, styroform atau kotak bahan plastik. Wadah kedua dan ketiga harus diberi jarak. Jika waktu pengiriman lama, viabilitas bakteri akan menurun, maka dapat ditambahkan *ice pack/ice gel/dry ice* dalam wadah ketiga dan tempatkan sedemikian rupa sehingga proses penguapan tidak terganggu. Informasikan pemakaian *ice pack/ice gel/dry ice* pada kurir. Wadah ketiga atau bagian paling luar harus dilengkapi dengan tanda bahan infeksius seperti terdapat dalam gambar 7. Lengkapi tanda infeksius dengan ketentuan sebagai berikut:

- Tanda infeksius berupa kode “UN 3373: *Biological Substance, Category B*” untuk spesimen
- Tanda infeksius berupa kode “UN 2814: *Infectious Substance, Affecting Humans, Category A*” untuk isolat.

Label harus lengkap antara lain nama dan alamat tujuan, nama dan alamat pengirim serta tanda panah yang menunjukkan bagian atas.

d. Penerimaan Spesimen

Spesimen diterima oleh bagian penerimaan di laboratorium. Petugas laboratorium harus memeriksa kesesuaian identitas pada kemasan dan formulir permintaan. Petugas juga harus mencatat data dalam buku register. Jika ada ketidaksesuaian identitas dan kualitas, segera hubungi pengirim untuk klarifikasi. Jika perlu bisa dimintakan ulang dahak pagi hari.

Kemasan sebaiknya dibuka di dalam BSC dengan menggunakan sarung tangan. Petugas harus memeriksa apakah ada kebocoran pada wadah spesimen. Jika terlihat ada kebocoran, kemasan harus langsung dibuang ke tempat sampah yang sudah diberi disinfektan dan selanjutnya di otoklaf. Jika ada pot dahak yang pecah, lakukan disinfeksi pada pot dahak dengan kapas yang sudah dibasahi dengan dsinfektan.

Petugas laboratorium bisa menolak spesimen yang tidak sesuai. Beberapa kriteria penolakan spesimen antara lain:

- 1) Spesimen tidak sesuai.
Misal dahak dan urin tampung 24 jam; swab dahak, spesimen darah yang ditambah EDTA; jaringan atau pus yang diawetkan formalin.
- 2) Spesimen tanpa permohonan pemeriksaan, label atau pelabelan salah.
- 3) Wadah pecah, rusak, atau bocor.
- 4) Keterlambatan penerimaan spesimen.
- 5) Permohonan pemeriksaan yang tidak sesuai ketentuan dalam Program TBC.

Petugas sebaiknya menghubungi dokter atau perawat pengirim untuk melakukan konfirmasi atau permintaan spesimen baru jika pengumpulan spesimen dilakukan dengan prosedur non invasif (dahak, urin). Jika spesimen diambil dengan prosedur invasif (aspirasi jarum, cairan tubuh, atau jaringan), maka spesimen dapat diproses setelah konsultasi langsung dengan dokter pengirim. Setiap masalah dilaporkan dan dilengkapi dengan dokumentasi tindakan korektif.

e. Pemrosesan Spesimen

- 1) Homogenisasi dan Dekontaminasi
Tujuan pemrosesan spesimen adalah untuk mengencerkan lendir dan mencerna (digesti) bahan organik dari spesimen, serta membunuh atau dekontaminasi bakteri selain *Mycobacterium*. Ada beberapa metode pemrosesan yang tersedia dengan beberapa kelebihan dan kekurangan, tetapi metode terpilih diharapkan dapat mematin sebanyak mungkin bakteri kontaminan dan merusak sesedikit mungkin *Mycobacterium*.

Ada 2 (dua) metode yang umum digunakan untuk homogenisasi dan dekontaminasi, antara lain:

- a) Metode NALC-NaOH

Larutan yang digunakan adalah NALC-NaOH-Na sitrat. N-acetyl-L-cysteine (NALC) merupakan agen mukolitik untuk pengenceran

lendir dengan cepat, sedangkan NaOH merupakan agen dekontaminasi untuk membunuh bakteri kontaminan. Metode dekontaminasi dengan larutan ini bersifat ringan dikarenakan NALC akan membuat konsentrasi akhir NaOH (agen dekontaminan kuat) di dalam dahak menjadi lebih rendah (1-1,5 kali). NALC mudah menjadi inaktif dalam larutan, sehingga harus selalu dibuat baru (*fresh*) setiap hari (*tidak dapat disimpan lebih dari 24 jam*). Natrium sitrat memberikan efek stabilisasi pada NALC dengan mengikat ion logam berat dalam spesimen. *Buffer* fosfat menetralkan NaOH dan mengencerkan homogenat untuk mengurangi viskositas dan berat jenis sebelum proses sentrifugasi.

Metode ini mempunyai angka positivities lebih baik dibandingkan metode lain karena hanya membunuh sekitar 30% bakteri *Mycobacterium*. Metode ini dapat digunakan untuk biakan pada media padat maupun cair. Larutan dibuat sesuai kebutuhan dengan mengikuti Tabel 8 di bawah ini:

Tabel 8. Komposisi larutan NALC-NaOH

Volume (ml)	N-Acetyl cystein (g) NALC	Stok A (ml) NaOH 4%	Stok B (ml) Na-citrat 2,9%
5	0,025	2,5	2,5
50	0,25	25	25
100	0,5	50	50
200	1	100	100
300	1,5	150	150
500	2,5	250	150
1000	5	500	500

Prosedur pembuatan dari masing-masing larutan tersebut adalah sebagai berikut:

- (1) Pembuatan larutan NaOH 4%
 - (a) Alat
 - Timbangan analitik
 - Gelas beaker 500 ml
 - Botol kaca yang dapat disterilkan
 - pH meter
 - Otoklaf
 - Gelas ukur 1000 ml
 - (b) Bahan
 - NaOH
 - Akuades
 - (c) Cara pembuatan
 - Timbang 4 g pelet NaOH kering (jangan biarkan botol NaOH terbuka karena NaOH sangat higroskopis). Gunakan APD (kaca mata, lab jas, sarung tangan) saat menimbang NaOH karena NaOH bersifat kaustik kuat.

- Masukkan ke dalam beaker yang berisi 100 ml akuades. Beaker akan menjadi panas.
 - Biarkan hingga dingin.
 - Pindahkan larutan ke dalam botol dan masukkan ke dalam otoklaf 121 °C selama 15 menit. Volume NaOH tiap botol upayakan tidak lebih dari 100 ml.
 - Simpan di suhu ruang.
- (2) Pembuatan 0,067 M PBS pH 6,8
- (a) Alat
- Timbangan analitik
 - Gelas beaker 1000 ml
 - Botol kaca yang dapat disterilkan
 - pH meter
 - Otoklaf
 - Gelas ukur 1000 ml
- (b) Bahan
- Na_2HPO_4 anhidrat atau $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$
 - KH_2PO_4
- (c) Cara Pembuatan
- Timbang Na_2HPO_4 anhidrat 9.47 g, larutkan dalam 1000 ml aquades atau timbang $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 23.68 g dan dilarutkan dalam 1000 ml aquades.
 - Timbang 9.07 g KH_2PO_4 , larutkan dalam 1000 ml aquades, campur, masukkan dalam botol bertutup ulir.
 - Atur pH dengan menambahkan sedikit asam atau basa agar mencapai pH 6.8.
 - Otoklaf 121 °C selama 15 menit, dinginkan di suhu ruang, simpan di lemari es.
- (d) **Catatan:**
- PBS dapat dibuat dalam bentuk konsentrat 10 kali, yaitu dengan cara menimbang bahan 10 kali lipat. Larutan kerja dibuat dengan jalan menambahkan 1 bagian volume PBS 10x dengan 9 bagian volume aquades, pH 7.0.
 - HCl adalah asam kuat. Jika terjadi tumpahan, segera siram dengan air sebanyak mungkin.
- (3) Pembuatan larutan Natrium Sitrat
- (a) Alat
- Timbangan analitik
 - Gelas beaker 1000 ml
 - Botol kaca yang dapat disterilkan
 - pH meter
 - Otoklaf
 - Gelas ukur 1000 ml
- (b) Bahan
- Natrium sitrat dihidrat atau Na-sitrat anhidrat

- NaOH 4%
 - Akuades
- (c) Cara Pembuatan
- Sebanyak 29 g Natrium sitrat dihidrat atau 26 g Na-sitrat anhidrat ditimbang dan dilarutkan dalam 1000 ml aquades.
 - Campur larutan Natrium sitrat dan NaOH 4%, perbandingan 1:1.
 - Otoklaf 121 °C selama 15 menit. Dinginkan di suhu ruang.
 - Simpan di lemari es.

b) Metode Petroff – NaOH 4%

Natrium hidroksida (NaOH) bersifat toksik, baik untuk kontaminan maupun bakteri *Mycobacterium*. NaOH dapat membunuh sekitar 70% bakteri *Mycobacterium* dalam spesimen. Oleh karena itu, prosedur ini sangat ketat terhadap pengaturan waktu kontak. Prosedur dekontaminasi ini hanya dapat digunakan untuk sampel yang akan diinokulasi pada media padat. Cara pembuatan larutan sama dengan pembuatan larutan NaOH 4% pada metode NALC-NaOH.

Ada 2 (dua) jenis spesimen yang akan dilakukan pemeriksaan biakan yaitu spesimen steril dan non steril. Spesimen disebut steril jika proses pengumpulan dilakukan dengan prosedur aseptik (pus dari abses dingin, cairan otak/serebrospinalis, cairan sinovial atau bagian tubuh lain, dan jaringan biopsi bedah), sedangkan spesimen disebut tidak steril jika proses pengumpulan dilakukan dengan tidak aseptik atau terkontaminasi bakteri flora normal (dahak, urin, pus, cairan lambung). Spesimen steril biasanya bisa langsung diinokulasikan ke media biakan tanpa proses dekontaminasi. Akan tetapi, sebagian besar spesimen dianggap terkontaminasi, sehingga harus dilakukan prosedur dekontaminasi. Yang perlu diperhatikan bahwa proses dekontaminasi yang terlalu kuat justru dapat mematikan bakteri.

Setelah homogenisasi dan dekontaminasi dilakukan, maka dilanjutkan dengan proses sentrifugasi. *Mycobacterium* memiliki berat jenis rendah dan dapat melayang selama sentrifugasi. Gaya sentrifugal relatif 3.000 x g (bukan 3.000 rpm) selama 15 menit berfungsi untuk sedimentasi bakteri *Mycobacterium*. Tingkat sedimentasi sangat tergantung pada waktu dan gaya sentrifugal relatif. Perpanjangan waktu sentrifugasi dapat mengimbangi gaya sentrifugal yang relatif lebih rendah, tetapi justru dapat meningkatkan suhu spesimen dan mematikan *Mycobacterium* (sebaiknya menggunakan *refrigerated centrifuge*).

Berikut merupakan prosedur pemrosesan spesimen dahak dan non dahak:

(1) Dahak

Pemrosesan dengan NALC – NaOH

- (a) Tuang dahak ke dalam tabung sentrifus 50 ml. Tambahkan NALC – NaOH sama banyak.
- (b) Kocok hingga homogen sampai tidak lebih dari 30 detik dan diamkan selama 15 menit pada suhu kamar.
- (c) Tambah PBS sampai volume 45 ml. Bolak-balik tabung beberapa kali.
- (d) Sentrifus selama 15 menit, 4-12 °C, 3000 g.
- (e) Buang supernatan, kemudian tambahkan 1 ml PBS.
- (f) Sedimen siap untuk diinokulasi pada media.

Pemrosesan dengan NaOH 4%

- (a) Tuangkan dahak ke dalam tabung sentrifus 50 ml. Jika lebih dari 10 ml, pilih 10 ml bagian yang purulen.
- (b) Campurkan dahak dengan larutan NaOH 4% sebanyak 1:1.
- (c) *Vortex* sampai homogen. Diamkan dalam suhu ruang tidak lebih dari 15 menit (jika terlalu lama, kuman akan mati).
- (d) Tambahkan larutan PBS hingga volume > 45 ml dengan pipet (jika menuang PBS dari botol, gunakan botol volume 100 ml, buang sisa PBS).
- (e) Tabung ditutup rapat, sentrifus minimal 3000 x g selama 15 menit.
- (f) Tuang supernatan ke dalam wadah berisi desinfektan. Usap bibir tabung dengan 95% etanol (jangan sampai masuk ke dalam tabung).
- (g) Tambahkan 1 ml PBS ke dalam sedimen, kocok agar homogen.
- (h) Spesimen yang diproses siap diinokulasikan pada media. Jangan lupa membuat sediaan apusan ZN pada sisa inokulum.

Catatan

Jika dalam evaluasi ternyata 4% NaOH terlampaui kuat, ganti dengan NaOH 2%. Selalu gunakan larutan steril untuk mencegah kontaminasi *Mycobacterium* lingkungan. NaOH adalah senyawa higroskopis. Bubuk yang sudah lembab sebaiknya tidak dipakai. Apabila menggunakan NaOH 4% dan angka kontaminasi >5%, maka ganti menjadi NaOH 6%.

(2) Spesimen non dahak

- (a) Pus dan spesimen mukopurulen lain

Prosedur:

- Jika spesimen tebal dan mukoid, volume kurang dari 10 ml, maka homogenisasi dan dekontaminasi dilakukan sesuai dengan prosedur yang digunakan untuk sputum.
- Jika spesimen tidak tebal, dapat ditambahkan NaOH 2-4%. Konsentrasi NaOH tergantung pada bakteri kontaminan dalam spesimen.

- Jika volume lebih dari 10-12 ml, maka ambil 10 ml konsentrasi pertama setelah sentrifugasi 3000 x g selama 15 menit.
- Jika spesimen tebal, encerkan spesimen dengan menambahkan sedikit NALC saja (50-100 mg bubuk) dan aduk rata.
- Setelah dikonsentrasi dengan setrifus, maka resuspensi sedimen ke dalam 5 ml air steril, dekontaminasi dengan NaOH dan konsentrasikan lagi dengan sentrifus.
- Selalu resuspensi sedimen (pelet) dalam *buffer* untuk mengurangi pH.

(b) Aspirat lambung

Prosedur

- Jika spesimen sangat berlendir, tambahkan langsung bubuk NALC 1-2 mg per ml spesimen sebelum diproses, dan campurkan.
- Volume spesimen biasanya lebih dari 10 ml, konsentrasikan spesimen dengan sentrifugasi 3000 x g selama 15 menit.
- Supernatan dituang dan resuspensi sedimen dalam 2-3 ml *buffer* saline atau fosfat steril 0,067 M (pH 6,8) atau 5 ml air steril.
- Tambahkan volume NALC-NaOH yang sama seperti yang direkomendasikan untuk spesimen dahak.
- Setelah dekontaminasi, konsentrasikan kembali sebelum inokulasi sedimen ke dalam media biakan.
- Karena pH rendah, aspirasi lambung harus diproses sesegera mungkin (dalam waktu 4 jam setelah pengumpulan).
- Jika spesimen tidak dapat diproses dengan cepat, spesimen harus dinetralisasi dengan NaOH sebelum transportasi atau penyimpanan.

(c) *Brochoalveolar lavage* (BAL)

Prosedur:

- Semua spesimen paru lainnya, seperti BAL dapat diperlakukan sebagai sputum.
- Jika volume spesimen mencapai 10 ml, proses seluruh spesimen.
- Jika volume lebih besar, konsentrasikan spesimen dengan sentrifugasi 3000 x g, selama 15 menit.
- Jika spesimen tebal atau mukoid, encerkan dengan penambahan sedikit bubuk NALC (50-100 mg).
- Setelah sentrifugasi, resuspensi sedimen dalam 5 ml air steril dan dekontaminasi seperti sputum.

(d) Usap laring

Prosedur:

- Usap harus diproses untuk biakan pada hari penerimaan yang sama atau disimpan di lemari es suhu 2-8 °C jika ada penundaan hingga 24 jam.
- Gunakan forsep steril untuk memindahkan usap ke tabung sentrifus steril volume 50 mL.
- Jika perlu lepaskan batang usap agar dimasukkan ke dalam tabung.
- Hindari percikan dan menyentuh permukaan bagian dalam tabung, dan patahkan usap jauh dari pemeriksa.
- Tambahkan 2,0 mL air suling steril atau garam, lalu tambahkan juga 2 mL larutan NALC-NaOH ke tabung.
- Homogenkan dengan *vortex* selama 1 menit dan biarkan selama 15 menit untuk dekontaminasi spesimen.
- Ambil usap dan buang cairan dengan menekan usap ke dinding bagian dalam tabung dengan forsep steril.
- Isi tabung dengan *buffer* saline atau fosfat steril 0,067 M (pH 6,8).
- Campur dan sentrifugasi pada 3000 x g selama 15 menit.
- Buang cairan supernatan dan suspensikan kembali sedimen dalam 1,0-2,0 mL fosfat *buffer*.
- Gunakan suspensi ini untuk pengecatan dan biakan.

(e) Jaringan

Alat *grinder* steril direkomendasikan untuk memproses spesimen biopsi.

Prosedur:

- Bila jaringan terlalu kecil untuk digiling, diamkan dalam media cair yang terdapat *glass bead* steril diameter 3 mm dan *vortex*.
- Potongan besar jaringan harus dipotong menjadi bagian lebih kecil dengan gunting jaringan atau pisau bedah steril.
- Pindahkan spesimen jaringan ke *grinder* steril dengan menggunakan ose atau jarum steril.
- Letakkan spesimen di sepanjang dinding samping tabung *grinder* jaringan.
- Tambahkan 2-4 mL saline steril ke tabung.
- Hancurkan jaringan dengan *grinder*.
- Dekontaminasi spesimen yang dihomogenisasi mengikuti prosedur NaOH-NALC yang sama seperti pada sputum.

Catatan :

- i) Jika *grinder* tidak ada, maka gunakan mortar. Jaringan ditaruh di cawan petri dengan air steril (2-4 ml) dan dibelah dengan bantuan dua jarum steril.
- ii) Semua langkah harus dilakukan di dalam BSC dan semua peralatan harus steril.

(f) Urin

Prosedur:

- Urin dikonsentrasikan dengan sentrifugasi menggunakan beberapa tabung sentrifus 50 ml (tutup ulir) selama minimal 20 – 25 menit.
- Resuspensi sedimen di setiap tabung dengan 1 - 2 ml air steril kemudian campur menjadi satu (total volume 5 – 10 ml).
- Dekontaminasi spesimen terkonsentrasi dengan 4% NaOH selama 15 menit.
- Setelah dekontaminasi, lanjutkan cara yang sama dengan sputum.

(g) Cairan tubuh lain

Prosedur:

- Cairan tubuh, seperti cairan serebrospinalis, cairan sinovial dan cairan pleura dikumpulkan secara aseptik dan dapat diinokulasi secara langsung ke dalam medium MGIT tanpa dekontaminasi (dengan penambahan PANTA).
- Jika sterilitas belum tentu terjamin, disarankan spesimen ini juga didekontaminasi secara ringan.
- Jika volume spesimen lebih dari 10 ml, konsentrasikan dengan sentrifugasi pada sekitar 3000 x g selama 15 menit.
- Spesimen tebal atau mukoid, encerkan dengan bubuk NALC (50-100 mg) sebelum sentrifugasi.
- Setelah sentrifugasi, resuspensi sedimen dengan 5 ml saline lalu dekontaminasi mengikuti prosedur yang sama dengan sputum.
- Isolasi *Mycobacterium* dari spesimen darah belum dievaluasi secara menyeluruh. Beberapa penelitian telah mempublikasikan metode lisis sentrifugasi untuk biakan spesimen darah sebelum diinokulasikan ke dalam tabung MGIT. BACTEC *Myco* / F direkomendasikan untuk isolasi *Mycobacterium* dan jamur dari sampel darah.

(h) Feses

Prosedur:

- Tinja sejumlah 1 g disuspensikan dalam 5 ml *Middlebrook broth*.
- Suspensi divortex selama 5 detik.
- Lanjutkan prosedur NALC-NaOH seperti yang direkomendasikan.

2) Inokulasi, Inkubasi dan Pemeriksaan Biakan

Setelah proses homogenisasi, dekontaminasi dan konsentrasi, maka spesimen siap untuk dilakukan pemeriksaan biakan dengan cara menginokulasi ke dalam media biakan, baik berupa media padat maupun cair.

Sebelum inokulasi, petugas perlu mempersiapkan media yang akan digunakan untuk biakan. Berikut penjelasan tentang media biakan *M. tb* beserta prosedur pembuatannya.

Media padat

1) Media Lowenstein-Jensen (LJ)

a) Alat

- | | |
|---|--|
| - Timbangan analitik | - pH Meter |
| - Spatula/sendok | - Otoklaf |
| - Gelas ukur 1000 ml steril | - Inspisator / <i>Hot air oven</i> |
| - Gelas beaker 1000 ml steril | - <i>Blender stainless steel</i> |
| - Pipet 10 ml & 25 ml | - Corong steril |
| - Labu Erlenmeyer 250 ml & 1000 ml steril | - <i>Magnetic stirrer & bar steril</i> |
| - Botol McCartney | - Kain kasa steril |
| - Bunsen | - Power pipet/pipetor |
| - Lap | |

b) Bahan

(1) Bahan dasar medium LJ, dengan komposisi:

- Monopotassium phosphate (anhydrous).....2,4 g
- Magnesium sulphate 7H₂O..... 0,24 g
- Magnesium citrate..... 0,6 g
- Asparagin..... 3,6 g
- Glycerol (kelas reagen)..... 12 ml
- Malachite green 2%.....20 ml

(2) Akuades.....600 ml

(3) Telur homogen hingga 1000 ml

c) Cara pembuatan media LJ

(a) Homogenisasi telur

- (1) Bersihkan telur ayam/bebek segar, usia ≤ 7 hari, dengan cara menggosok dengan lap, air dan sabun.
- (2) Bilas dengan air mengalir hingga bersih, kemudian keringkan.
- (3) Rendam dalam alkohol 70% selama 15 menit.
- (4) Cuci dan desinfeksi tangan sebelum memegang telur yang telah bersih dan kering.
- (5) Pecahkan telur dan tampung dalam gelas ukur steril.
- (6) Homogenisasi dengan blender, atur kecepatan sedemikian rupa agar tidak terbentuk gelembung.
- (7) Saring larutan telur menggunakan corong steril yang telah dialasi kasa steril.
- (8) Ukur dengan gelas ukur steril sampai volume akhir 1 liter.

Catatan:

Telur sebaiknya berasal dari hewan ternak yang pakannya tidak mengandung antibiotika. Rekomendasi adalah telur bebek. Homogenisasi telur dilakukan dalam *laminar air flow*, untuk meminimalisasi kontaminasi oleh mikroba udara.

(b) Pembuatan medium LJ

- (1) Larutkan media LJ *base* komersial atau komposisi tersebut di atas dalam 600 ml aquades, pH 6.8 – 7.0.
- (2) Tambahkan 12 ml *glycerol*.
- (3) Tambahkan secara aseptik 20 ml larutan *malachite green* 2%.
- (4) Setelah tercampur sempurna, di otoklaf selama 15 menit dengan suhu 121 °C.
- (5) Dinginkan sampai suhu ± 50 °C.
- (6) Tambahkan telur homogen sebanyak 1000 ml yang telah dipersiapkan secara steril, aduk perlahan, hindari terbentuk gelembung. Jika ada gelembung, diamkan beberapa waktu untuk menghilangkan gelembung.
- (7) Tuangkan ke dalam botol McCartney steril sebanyak 6 – 8 ml.
- (8) Tutup dengan longgar dan letakkan pada kemiringan 30° dalam inspikator selama 45 menit. Sebelumnya temperatur inspikator dioptimasi dulu sampai suhu 85 °C ± 1 °C. Keluarkan botol media dari inspikator, tutup botol dikencangkan dan diamkan sampai suhu kamar.
- (9) Bila media terlalu lembek, terjadi perubahan warna, berlubang, atau terdapat gelembung pada permukaan, maka media tersebut kualitas jelek dan tidak dapat digunakan.

Catatan:

- Jika membuat media LJ dari media komersial, maka ikuti petunjuk dari pabrik.
- Langkah pembuatan larutan *malachite green* adalah sebagai berikut:
 - Timbang 2 (dua) gram kristal *malachite green* dalam gelas kimia.
 - Tuang ke dalam mortir, gerus sampai halus, masukkan kembali ke dalam gelas kimia dan tambah aquadest 100 ml.
 - Masukkan magnetic stirrer, tempatkan di atas *stirring hot plate*, inkubasi selama 1-2 jam
 - Saring dengan kertas saring Whatmann no 4.
 - Simpan dalam botol coklat, catat tanggal pembuatan pada label.
 - Perhatikan apabila terdapat presipitasi atau perubahan warna, maka segera buang dan buat larutan baru.

2) Media agar 7H10 dan 7H11

a) Alat

- Timbangan analitik
- Spatula/sendok
- Gelas ukur steril
- Gelas beaker steril
- Pipet 10 ml
- Labu Erlenmeyer steril
- Cawan petri atau *petri dish*
- Kantong palstik zipper
- Otoklaf

b) Bahan

Komposisi per liter adalah

Agar.....	15.0 g
Na ₂ HPO ₄	1.5 g
KH ₂ PO ₄	1.5 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.5 g
L-Glutamic acid	0.5 g
Sodium citrate	0.4 g
Ferric ammonium citrate.....	0.04 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O.....	0.025 g
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	1.0 mg
CuSO ₄ ·5H ₂ O.....	1.0 mg
Pyridoxine.....	1.0 mg
Biotin	0.5 mg
CaCl ₂ ·2H ₂ O.....	0.5 mg
Malachite Green.....	0.25 mg
Middlebrook OADC enrichment	100.0 mL
Glycerol	5.0 mL

pH 6.6 ± 0.2 at 25°C

suplemen dilakukan di dalam BSC untuk menghindari kontaminasi. Penyimpanan suplemen OADC di tempat minimal pencahayaan (tempat gelap) pada suhu 2 – 8 °C. Jangan dibuka sampai dengan digunakan.

3) MGIT PANTA

Kontaminasi dapat dikurangi dengan penambahan campuran antimikroba PANTA pada media sebelum inokulasi spesimen. Setiap botol MGIT PANTA (untuk MGIT 960) mengandung campuran terliofilisasi antimikroba dengan konsentrasi sebagai berikut:

- Polymyxin B ----- 6.000 unit
- Amphotericin B ----- 600 µg
- Nalidixic Acid ----- 2,400 µg
- Trimetoprim ----- 600 µg
- Azlocillin ----- 600 µg

PANTA liofilisasi disimpan pada suhu 2-8 °C. Setelah dilarutkan, campuran PANTA dapat digunakan dalam waktu 72 jam, jika disimpan pada suhu 2 - 8 °C, atau hingga 6 bulan jika disimpan pada suhu -20 °C atau lebih dingin.

Setelah persiapan media selesai, maka spesimen yang telah diproses segera diinokulasikan ke media yang dipilih dengan prosedur sebagai berikut:

1) Inokulasi pada Media Padat

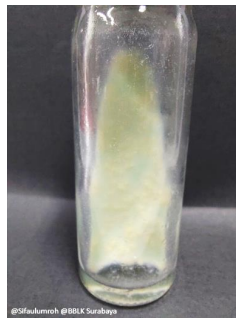
a) Peralatan

- LJ Media
- Pipet transfer steril dengan penanda volume
- Desinfektan tuberkuloisidal
- Tempat pembuangan dari plastik biohazard yang berisi desinfektan
- Kertas yang direndam desinfektan
- Spidol permanen

2) Prosedur

- (1) Beri label tabung LJ atau 7H10 / 7H11 agar *plate* sesuai dengan penomoran laboratorium.
- (2) Pastikan bahwa media tabung LJ atau media agar tidak mengandung air kondensasi. Buang sisa air pada tabung media LJ, posisikan miring dengan pipet transfer steril.
- (3) Ambil 200 µl sedimen dengan pipet ke dalam media LJ atau media 7H10 / 7H11 agar, buat duplo jika perlu.
- (4) Tutup tabung LJ, tetapi jangan terlalu rapat. Sedangkan, media 7H10 / 7H11 agar *plate* diséal dan dimasukkan dalam kantong polyethylene.

- (5) Sebar secara merata bahan pemeriksaan tersebut di atas permukaan media dengan menggerakkan botol atau plate.
- (6) Bersihkan permukaan botol dengan disinfektan.
- (7) Letakkan tabung LJ pada rak dengan kemiringan 30° di dalam inkubator suhu 35 – 37 °C selama 24 jam, sedangkan media plate dimasukkan di dalam inkubator CO₂.
- (8) Setelah inkubasi 24 jam, kencangkan tutup tabung LJ dan letakkan pada rak tabung dengan posisi tegak dan lanjutkan inkubasi.
- (9) Amati pertumbuhan *M.tbc* setiap minggu. Pengamatan dilakukan sampai dengan 8 minggu. Hasil dilaporkan negatif jika tidak ada pertumbuhan setelah 8 minggu.
Ciri khas *M. tbc* adalah:
 - Pertumbuhan akan terlihat pada 2 – 4 minggu.
 - Koloni warna putih kekuningan (*buff coloured*), permukaan kering dan rapuh dengan tepi tidak beraturan, dan seperti bunga kol (Gambar 8.)



Gambar 8. Pertumbuhan koloni bakteri *M. tbc* pada media padat LJ
(Sumber: koleksi gambar BBLK Surabaya)

- (10) Catat hasil pengamatan setiap minggu pada buku catatan biakan.
- (11) Pembacaan dan pencatatan hasil biakan disesuaikan dengan standar.

Tabel 9. Cara Pembacaan dan pencatatan hasil biakan pada media LJ

Pembacaan	Pencatatan
>200 koloni	3 +
>100—200 koloni	2 +
10—100 koloni	1 +
1— 9 koloni	Catat jumlah koloni
Tidak ada pertumbuhan	Negatif
Kontaminasi	Kontaminasi

b) Interpretasi Hasil

- (1) Bila biakan POSITIF, lanjutkan proses identifikasi:
 - (a) Pelaporan sebagai “*M. tbc* positif” setelah hasil identifikasi minimal 2 (dua) uji identifikasi menunjukkan positif untuk *M. tbc*.
 - (b) Pelaporan sebagai NTM, ditulis sebagai:
 - “NTM tumbuh cepat (*rapid grower*) positif”, apabila koloni tumbuh pada media LJ dalam waktu < 7 hari dan hasil identifikasi (minimal 2 uji identifikasi) menunjukkan sebagai NTM.
 - “NTM tumbuh lambat (*slow grower*) positif”, apabila koloni tumbuh pada media LJ dalam waktu ≥ 7 hari dan hasil identifikasi (minimal 2 uji identifikasi) menunjukkan sebagai NTM.
- (2) Bila biakan NEGATIF, laporan akhir (final) dibuat setelah minggu ke-8 -- Pelaporan sebagai “*M. tbc* negatif”
- (3) Jika biakan pada media LJ mengalami kontaminasi, maka cara identifikasi masalah dan penyelesaiannya sebagai berikut:
 - Permukaan media kultur yang terkontaminasi mungkin sepenuhnya tertutup oleh pertumbuhan non-mikobakteri
 - Beberapa spesies bakteri dapat mencairkan media (media rusak).
 - Beberapa spesies mengubah warna dari media padat (perubahan warna hijau-biru menjadi lebih gelap atau krem) dikarenakan spesies kontaminan menghasilkan asam dan menurunkan pH.
 - Jika hal ini terjadi, maka biakan harus disterilkan, dibuang dan dilakukan pengulangan biakan dari spesimen atau sedimen dekontaminasi yang disimpan di lemari es 2-8 °C dengan waktu penyimpanan maksimal 7 hari atau menggunakan spesimen baru.
 - Jika kontaminasi hanya sebagian di permukaan miring media LJ dan tidak merubah karakteristik media, maka biakan dapat dipertahankan sampai dengan minggu ke-8.
 - Prosedur dekontaminasi dari koloni LJ antara lain:
 - Kerok koloni dari media LJ dengan ose secukupnya
 - Lakukan proses dekontaminasi dengan 1 ml NALC-NaOH.
 - Kocok hingga homogen, tidak lebih dari 30 detik dan diamkan selama 15 menit pada suhu kamar.
 - Tambah PBS sampai volume 45 ml.
 - Bolak-balik tabung beberapa kali.
 - Sentrifus selama 15 menit, 10 °C, 3000 g.
 - Buang supernatan kemudian tambahkan 1 ml PBS.
 - Inokulasi pada 2 media LJ sebanyak 200 µl.
 - Inkubasi pada inkubator suhu 37 °C.

3) Inokulasi pada Media Cair

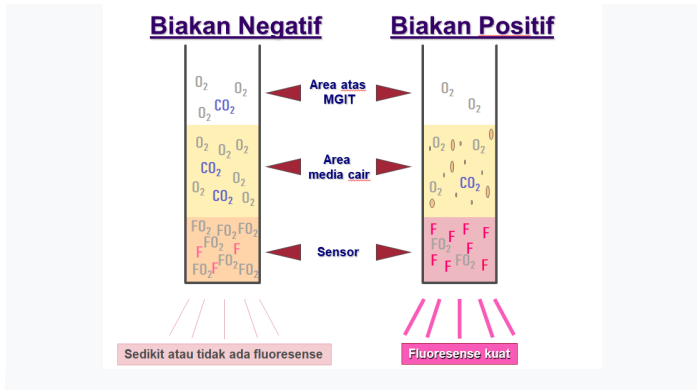
a) Tujuan

Media MGIT berfungsi untuk meningkatkan jumlah organisme *M. tbc* dalam sampel dan dapat mendeteksi sampel positif dengan cepat. Penilaian semikuantitatif jumlah bakteri dapat ditentukan dengan perhitungan waktu mulai dari sinyal positif (TTD = *time to detection* = waktu deteksi) dalam sistem BACTEC MGIT 960. Hasil biakan MGIT positif yang dilanjutkan konfirmasi BTA dengan ZN dan tes identifikasi cepat merupakan indikator utama untuk deteksi *M. tbc* dalam dahak.

b) Prinsip

Media MGIT terdiri dari kaldu *Middlebrook* 7H9 modifikasi dengan volume 7 ml. Sistem MGIT otomatis memerlukan instrumen yang disebut BACTEC 960 (ukuran lain juga tersedia) Untuk biakan spesimen rutin, suplemen pertumbuhan atau OADC (asam oleat, albumin, dekstrosa, katalase) ditambahkan ke medium sebelum inokulasi untuk melengkapi medium. Asam oleat digunakan oleh basil tuberkel untuk metabolisme mikobakterium. Albumin sebagai agen pelindung, mengikat asam lemak bebas (yang mungkin beracun bagi spesies *Mycobacterium*) sehingga meningkatkan daya hidup bakteri. Dextrose adalah sumber energi. Katalase menghancurkan peroksida beracun yang mungkin ada dalam medium. Suplemen ini sangat penting untuk pertumbuhan banyak jenis mikobakteri, terutama *M. tbc*. Selain itu, koktail antibiotik (PANTA) juga perlu ditambahkan untuk menghambat bakteri kontaminan.

Tabung MGIT mengandung senyawa fluoresen yang tertanam dalam silikon di bagian bawah tabung dan peka terhadap keberadaan oksigen terlarut dalam kaldu. Emisi senyawa tersebut akan dipadamkan oleh oksigen. Selama pertumbuhan bakteri di dalam tabung, oksigen bebas digunakan dan digantikan oleh CO₂. Penipisan oksigen bebas menghasilkan sensor fluoresensi dalam tabung MGIT saat visualisasi di bawah sinar ultraviolet (UV). Intensitas fluoresensi berbanding lurus dengan tingkat penipisan oksigen. Instrumen BACTEC MGIT 960 secara otomatis mendeteksi fluoresensi ini.



Gambar 9. Ilustrasi prinsip biakan *M. tbc* pada media cair – MGIT

Pertumbuhan bakteri akan dipantau oleh instrumen MGIT 960 dan dicatat dalam bentuk *Growth Unit* (GU). Mesin melakukan pembacaan setiap jam. Tabung 'Positif' diberi sinyal otomatis melalui algoritme internal apabila GU mencapai atau melebihi nilai cut off 75 unit. Nilai ini diklasifikasikan sebagai *True Positive* dan dikonfirmasi dengan pengecatan ZN dan cek kontaminasi. Jika sinyal tabung MGIT positif dan GU = 0 atau lebih tinggi setelah inkubasi 5 jam, berarti pertumbuhan terjadi sangat cepat dan telah melewati cut off 75 unit. Gambar grafik akan menunjukkan pertumbuhan yang tampak sangat curam dibandingkan dengan kurva bertahap yang dihasilkan oleh *True Positive*. Jika pertumbuhan eksplosif terjadi, perangkat lunak akan mencatat sebagai T di kolom pertumbuhan. Hal tersebut menunjukkan bahwa tabung MGIT terkontaminasi. Kontaminasi terjadi apabila konfirmasi hasil BTA negatif dan terdapat pertumbuhan pada media agar darah/*brain heart infusion* (BHI) agar.

GU bukan indikasi biomassa dalam tabung biakan. Tabung MGIT positif biasanya mengandung biomassa sekitar 10^5 - 10^6 CFU/ml. Akan tetapi, tabung MGIT tetap dapat memberi sinyal positif meskipun CFU sangat rendah untuk menghasilkan BTA positif. Tidak ada korelasi langsung antara biomassa dan GU pada saat positivitas instrumen.

c) Peralatan

- Tabung MGIT tubes, 7 ml
- MGIT PANTA
- MGIT *Growth Supplement*
- Rak tabung 15 ml
- Pipet transfer steril (terdapat penanda volume)
- Pipet serologi steril (10 atau 20 ml)

- Tip pipet
- Pipet p1000 dengan tip berfilter steril
- Desinfektan
- Tempat pembuangan dari plastik biohazard berisi desinfektan
- Label
- Spidol permanen

d) Prosedur

- (1) Periksa semua tabung MGIT apakah ada kontaminasi atau rusak. Pastikan tabung MGIT dalam kondisi baik. Inokulasi ke dalam tabung MGIT harus dilakukan di dalam BSC dengan perlengkapan APD.
- (2) Saat spesimen sedang diproses (homogenisasi dan dekontaminasi), siapkan suplemen antibiotik (PANTA). Rekonstitusi/campur MGIT PANTA dengan 15 ml MGIT *Growth Supplement*. Campuran ini stabil selama 5 hari jika disimpan pada suhu 2 – 8 °C. Beri label antara lain tanggal pembuatan, tanggal kadaluwarsa, dan nama inisial pembuat pada sisa campuran yang akan disimpan.
- (3) Beri label sisi masing-masing tabung MGIT sesuai dengan penomoran laboratorium. Catat nomor tabung MGIT (dari label *barcode*) di lembar kerja laboratorium MGIT.
- (4) Buka tutup tabung MGIT dan tambahkan 0,8 ml campuran PANTA dan *growth supplement* ke masing-masing tabung MGIT menggunakan mikropipet dengan tip steril (aseptik).
- (5) Tambahkan 0,5 ml spesimen yang telah diproses/terkonsentrasi dengan pipet transfer steril ke dalam tabung MGIT berlabel.
- (6) Segera tutup tabung dengan rapat dan homogenisasi dengan membalik tabung beberapa kali.
- (7) Bersihkan tabung dan tutup tabung dengan desinfektan *mycobacterisidal* dan diamkan pada suhu kamar selama 30 menit.
- (8) Masukkan tabung ke dalam mesin MGIT sesegera mungkin sesuai dengan buku petunjuk alat.
- (9) Instrumen MGIT akan menginkubasi dan memonitor secara otomatis.
- (10) Tabung MGIT tetap berada di dalam mesin sampai terdapat sinyal "positif" jika ada pertumbuhan, atau sinyal "negatif" jika tidak ada pertumbuhan setelah inkubasi selama 42 hari.
- (11) Tabung yang menunjukkan sinyal positif segera diambil. Lanjutkan identifikasi BTA dengan pewarnaan ZN untuk melihat bakteri mikobakterium dan subbiakan pada media agar darah/BHI agar (inkubasi suhu 35-37 °C selama 24-72 jam) untuk melihat ada tidaknya kontaminan.
- (12) Tabung yang menunjukkan sinyal negatif segera diambil. Pastikan secara visual bahwa benar-tidak ada pertumbuhan.

Apabila tampak pertumbuhan, maka lanjutkan langkah seperti perlakuan jika tabung positif. Jika tidak ada pertumbuhan, maka bisa dilanjutkan untuk pencatatan hasil negatif.

(13) Interpretasi hasil biakan MGIT:

- (a) Jika waktu deteksi MGIT ≥ 7 hari, hasil BTA negatif dan terdapat pertumbuhan pada media agar darah/BHI agar berarti tabung MGIT terkontaminasi dan segera buang.
- (b) Jika waktu deteksi MGIT < 7 hari, hasil BTA negatif dan terdapat pertumbuhan pada media agar darah/BHI agar, maka reinkubasi maksimal 14 hari dan ulangi lagi identifikasi BTA dan subbiakan pada media agar darah. Hal ini bertujuan untuk memastikan jumlah bakteri *M.tbc* sangat sedikit sehingga tidak terdeteksi. Apabila hasil ulangan menunjukkan BTA negatif, berarti tabung MGIT terkontaminasi. Apabila hasil ulangan positif. Maka lanjutkan seperti langkah di di poin (c).
- (c) Jika waktu deteksi MGIT berapapun, hasil BTA positif dan terdapat pertumbuhan pada media agar darah/BHI agar, maka:
 - Apabila BTA positif dari koloni yang tumbuh di media agar darah/BHI agar. Lakukan identifikasi MPT64 untuk menentukan *M.tbc* atau NTM. Jika perlu murnikan terlebih dahulu, sehingga kontaminan tidak mengganggu identifikasi MPT64. Apabila BTA positif dan identifikasi MPT64 negatif, maka reinkubasi selama 48 jam dan ulang kembali MPT64. Jika hasil ulangan menunjukkan positif, maka laporkan sebagai "*M.tbc* positif dan terkontaminasi". Apabila hasil ulangan negatif, maka laporkan sebagai "NTM".
 - Apabila hasil BTA dari koloni yang tumbuh pada media agar darah/BHI agar negatif, maka lakukan identifikasi dengan MPT64. Apabila MPT64 positif, maka laporkan sebagai "*M.tbc* positif dan terkontaminasi". Apabila MPT64 negatif, maka reinkubasi 48 jam dan ulangi kembali uji MPT64. Jika hasil ulangan menunjukkan positif, maka laporkan sebagai "*M.tbc* positif dan terkontaminasi". Apabila hasil ulangan negatif, maka laporkan sebagai "NTM".
- (d) Jika waktu deteksi MGIT berapapun, hasil BTA positif dan tidak ada pertumbuhan pada media agar darah/BHI agar, maka:
 - Lakukan identifikasi MPT64 dan bila positif, maka laporkan sebagai "**M.tbc**".
 - Identifikasi MPT64 negatif atau invalid, maka reinkubasi kembali selama 48 jam dan dilakukan pengulangan MPT64. Apabila hasil ulangan positif,

maka laporkan sebagai “**M.tbc**”. Apabila hasil pengulangan negatif, maka laporkan sebagai “**NTM**”.

- (e) Jika waktu deteksi MGIT berapapun, hasil BTA negatif dan tidak ada pertumbuhan pada media agar darah/BHI agar (kasus jarang), maka:
- Reinkubasi kembali tabung MGIT minimal 3 (tiga) hari sampai menunjukkan sinyal positif kembali.
 - Apabila BTA positif dan media agar darah/BHI agar tidak ada pertumbuhan, maka lakukan langkah (e).
 - Apabila BTA positif dan media agar darah/BHI agar terkontaminasi, maka lakukan langkah (c).
 - Apabila BTA negatif dan media agar darah/BHI agar terkontaminasi, maka lakukan langkah (b).
 - Apabila BTA negatif dan tidak ada pertumbuhan pada media agar darah/BHI agar, maka reinkubasi kembali sampai dengan 42 hari sesuai dengan protokol.

(14) Pelaporan hasil biakan MGIT

Tabel 10. Pembacaan dan pelaporan hasil pemeriksaan biakan MGIT

Hasil MGIT	BTA dari MGIT	Media agar darah/BHI agar	Uji MPT64	Kesimpulan
Positif	Positif	Tidak tumbuh	Positif	<i>M.tbc</i> positif
Positif	Positif	Tumbuh	Positif	<i>M.tbc</i> positif dan terkontaminasi
Positif	Positif	Tidak tumbuh/tumbuh	Negatif	NTM
Positif	Negatif	Tumbuh	-	Kontaminasi
Negatif	-	-	-	<i>Mtbc</i> negatif

Catatan:

- Jika pada MGIT menunjukkan tabung positif, tetapi BTA negatif, tabung dapat dimasukkan kembali ke dalam instrumen untuk pemantauan lebih lanjut, tetapi masih dalam waktu 5 jam pengambilan tabung. Jika tabung tidak kembali ke mesin lebih dari 5 jam, data dihapus dari basis data instrumen dan tabung akan dipantau sebagai tabung yang baru dimasukkan.
- Jika biakan pada media MGIT terkontaminasi dan dibuang, maka dilakukan pengulangan biakan dari spesimen atau sedimen dekontaminasi yang disimpan di lemari pendingin 2-8 °C dengan waktu penyimpanan maksimal 7 (tujuh) hari atau spesimen baru.



Gambar 10. Gambaran visual dari tabung MGIT positif yang menunjukkan adanya pertumbuhan koloni.
(Sumber: koleksi gambar BBLK Surabaya)

e) Dekontaminasi tabung MGIT yang terkontaminasi

Dekontaminasi tabung MGIT harus dilakukan apabila:

- Hasil biakan "**positif *M. tuberculosis* dan terkontaminasi**" sedangkan biakan LJ primer negatif.
- Hasil uji MPT64 indeterminate, karena terdapat kontaminan.
- Untuk stok kuman, jika biakan LJ primer negatif.

Prosedur yang dilakukan adalah

- *Vortex* tabung MGIT yang terkontaminasi;
- Diamkan sekitar 1 menit.
- Tuang seluruh isi tabung MGIT ke dalam tabung sentrifus 50 ml.
- Tambah larutan NaOH 4%, perbandingan 1:1, sehingga konsentrasi akhir NaOH 2%.
- Campur rata dengan membalikkan tabung beberapa kali dan diamkan selama 15-20 menit.
- Tambahkan PBS, pH 6,8 sampai volume akhir 50 ml dan campur dengan rata.
- Sentrifus pada 3.000 xg selama 15-20 menit.
- Buang cairan supernatan.
- Resuspensi sedimen dalam 0,5 ml PBS dan campur dengan rata.
- Inokulasikan 0,5 ml ke dalam tabung MGIT baru yang telah ditambahkan suplemen pertumbuhan MGIT / PANTA.

- f) Beberapa kelemahan biakan dengan media cair (MGIT) antara lain:
- (1) Morfologi dan pigmentasi koloni tidak dapat diamati pada media cair.
 - (2) Jika terjadi kontaminasi (bakteri yang mampu bertahan hidup dari proses dekontaminasi dan inhibisi PANTA), maka akan mencemari seluruh media cair.

- (3) Hasil biakan positif dari spesimen klinis tidak dapat dikorelasikan dengan *Colony Forming Unit* (CFU) yang ada dalam spesimen. Hal ini biasanya penting digunakan untuk menentukan infeksi NTM.
- (4) Tabung MGIT dengan hasil positif bisa mengandung pertumbuhan campuran lebih dari satu jenis bakteri (*mixed growth*). Mikobakterium yang tumbuh cepat akan terdeteksi fluoresensi positif lebih cepat dibandingkan mikobakterium yang tumbuh lambat. Hal ini menjelaskan bahwa pembuatan sediaan BTA dan subbiakan pada media BAP / BHI agar menjadi sangat penting untuk mendeteksi pertumbuhan lebih dari satu spesies mikobakterium.
- (5) Sisa zat pereduksi atau alkali kadang dapat menyebabkan fluoresensi palsu pada sensor dalam waktu singkat.
- (6) Penggunaan PANTA diperlukan untuk menekan bakteri kontaminan, tetapi mempunyai efek penghambatan pada beberapa bakteri NTM. Meskipun demikian, positivitas NTM pada media cair lebih tinggi dibandingkan media padat.

f. Subbiakan / Subkultur

Subbiakan adalah suatu kegiatan untuk menumbuhkan strain bakteri baru dari isolat atau biakan bakteri lama pada media baru. Subbiakan bisa dilakukan baik dari media padat atau cair. Prinsip subbiakan sama dengan prinsip biakan tanpa proses dekontaminasi. Isolat yang diambil harus dipastikan murni dan tidak terkontaminasi. Hasil subbiakan dapat digunakan untuk memperbanyak isolat, identifikasi, uji kepekaan, stok kuman (jangka pendek maupun panjang) atau kepentingan pemeriksaan lain. Prosedur subbiakan sesuai dengan media yang digunakan dapat dilihat di bawah ini.

a) Subbiakan dari Media Padat LJ Ke Media Padat LJ

(1) Alat dan bahan yang diperlukan

- Isolat dari Media LJ
- Media LJ
- Tabung reaksi dengan tutup ulir
- *Glass beads*, diameter 1.5-3 mm
- *Vortex mixer*
- Aquades steril
- *Micropipette* 100 μ l
- Tip mikropipet

(2) Cara kerja

- (a) Pilih isolat dengan pertumbuhan koloni yang paling baik.
- (b) Ambil koloni sebanyak 1 (satu) sengkeli penuh.
- (c) Masukkan dalam tabung reaksi yang berisi 1 ml akuades steril dan *glass bead*, tutup tabung.
- (d) Homogenisasi dengan *vortex* selama \pm 1 menit.
- (e) Diamkan minimal 5-10 menit.

- (f) Ambil 100 μ l suspensi kuman dari bagian terbawah 1/3 atas .
 - (g) Inokulasikan pada tabung LJ, tutup kembali.
 - (h) Sebarkan inokulum merata di atas permukaan media dengan cara menggerakkan tabung.
 - (i) Tutup tabung dilonggarkan, letakkan pada rak dengan kemiringan 30°, simpan dalam inkubator suhu 35–37 °C selama 24 jam.
 - (j) Setelah 24 jam, kencangkan tutup dan letakkan tabung pada rak posisi tegak dan lanjutkan inkubasi sampai 2-3 minggu.
 - (k) Amati pertumbuhan tiap minggu.
- b) Subbiakan dari Media Cair MGIT ke Media Padat LJ
- 1) Alat dan bahan yang digunakan
 - Isolat dari media MGIT
 - Media LJ
 - Vortex
 - Pipet disposibel
 - 2) Cara kerja
 - (a) *Vortex* tabung MGIT dengan baik, diamkan minimal 5-10 menit dan buka tutup tabung.
 - (b) Ambil satu *aliquot* kecil kaldu (~ 200 μ l) dengan pipet disposibel.
 - (c) Inokulasikan pada 1-2 tabung LJ.
 - (d) Inkubasi pada inkubator suhu 37 °C (\pm 1 °C).

g. Penyimpanan Isolat

Prinsip

Semua isolat yang bersifat klinis dan strain *M. tb*c untuk *Quality Control* atau pemantapan mutu internal (PMI) harus disimpan dalam kondisi baik untuk menjaga viabilitas dan karakteristik kuman tersebut. Cara menghindari subbiakan secara serial, yang dapat menyebabkan mutasi genetik dan merubah karakteristik fenotipik *strain*, disarankan untuk menyimpan bentuk aliquot dalam *cryovial disposable* pada *deep freezer* -70°C.

Cryovial dapat disimpan selama 10-12 tahun atau lebih. Viabilitas basil tuberkel berkurang jauh lebih cepat pada -20 °C dibandingkan -70 °C. Suspensi dengan jumlah bakteri yang banyak akan memperpanjang viabilitas. Untuk menghidupkan kembali kuman beku, terutama *strain* yang disimpan dalam waktu lama, perlu subbiakan pada media kaya. Subbiakan pada media cair umumnya lebih baik daripada media padat. Suspensi *strain* untuk PMI harus disimpan pada suhu -70 °C dan dapat bertahan dalam 1 (satu) tahun. Jika waktu lebih lama, maka viabilitas akan menurun.

Peralatan dan bahan

- 1) *Cryovial* dengan tutup ulir (rekomendasi: ulir berada di luar)
- 2) *Freezer* dengan suhu minimal -20° C, atau *Deep Freezer* -60 °C s.d -70 °C. Penyimpanan yang direkomendasikan adalah suhu -70 °C;
- 3) Salah satu media untuk penyimpanan isolat yaitu:
 - 1) *Middlebrook* 7H9 ditambah ADC, disiapkan sesuai instruksi pabrik;
 - 2) Susu skim 10%, diautoklaf dulu suhu 110 °C selama 10 menit;

- 3) Gliserol 5% dalam NaCl 0,85%, diautoklaf suhu 110 °C selama 10 menit.

Langkah Kerja

- Gunakan kuman biakan atau isolat yang baru tumbuh di media padat atau media cair. Jika isolat berumur lebih dari 3 minggu, subbiakan pada media baru dan inkubasi suhu 37 °C. Jika kuman tumbuh dengan baik, maka gunakan untuk membuat suspensi.
- Ambil satu ose penuh koloni dari media padat dan buat suspensi homogen dengan salah satu media yang disebutkan di atas. Pindahkan secara aseptik sekitar 1,5 ml ke dalam beberapa *cryovial* volume 2 ml. Jika *cryovial* tidak tersedia, maka dapat menggunakan tabung *Eppendorf* 1,5 ml.
- Biakan dari media cair MGIT yang baru tumbuh juga dapat disimpan pada *cryotube* untuk penyimpanan beku. Rapatkan tutup, beri label berupa tanggal persiapan dan informasi tentang biakan pada tabung. *Cryovial* dimasukkan dalam *cryobox* dan disimpan dalam *freezer* untuk penyimpanan jangka panjang.
- Simpan catatan tanggal pembuatan biakan dan tanggal ketika dimasukkan dalam *freezer*.

Penyimpanan isolat pada skim milk

Bahan yang diperlukan

- Bubuk susu *skim* ("laboratory grade")
- Aquades

Alat yang diperlukan

- Otoklaf
- Botol Mc Cartney atau tabung bertutup ulir volume 10 ml
- *Glass bead*
- *Vortex mixer*
- Pipet 1 ml steril
- Cryo vial 2 ml steril
- *Ultra deep freezer* (-70 °C)
- *Biological Safety Cabinet* II

Cara kerja

- bubuk dalam 1 liter PBS (volume dapat diperkecil tergantung kebutuhan, tetapi perbandingan tetap seperti di atas) masukkan ke dalam botol tutup ulir, tutup botol jangan terlalu rapat.
- Sterilkan botol tersebut dalam otoklaf pada tekanan 15 psi dan suhu 110 °C selama 10 menit (jangan lebih dari 10 menit sebab akan terjadi "caramel").
- Setelah dingin tutup botol dikencangkan.
- Siapkan biakan *M. tbc* pada media LJ yang berumur 2 – 3 minggu.
- Kerok koloni tersebut dan masukkan ke dalam botol Mc Cartney yang telah berisi larutan PBS steril dan *glass bead* secukupnya.
- Homogenkan dengan menggunakan *vortex* selama ± 30 detik.

- Diamkan minimal 15 menit supaya gelembung yang terbentuk dapat mengendap. Sesuaikan kekeruhan suspensi kuman dengan 1 Mc Farland.
- Pipet suspensi kuman sebanyak 0.5 ml dan masukkan dalam *cryovial* yang berisi 0.5 ml suspensi susu *skim*. Simpan sebanyak mungkin minimal 50 vial.
- Simpan dalam ultra deep *freezer*. Kuman dapat bertahan beberapa tahun jika suhu stabil.

h. Resusitasi stok biakan dari -70 °C

Tujuan

Resusitasi stok biakan merupakan upaya menumbuhkan kembali bakteri dari proses penyimpanan jangka panjang.

Cara kerja

- 1) Ambil satu atau secukupnya tabung berisi kuman dari -70 °C.
- 2) Biarkan pada suhu ruang sampai mencair.
- 3) Buka *cryovial*, masukkan ose steril (diameter 3 mm) tegak lurus sampai dasar. Putar ose beberapa kali perlahan.
- 4) Tanam satu ose pada seluruh permukaan media LJ dengan jalan menggores. Alternatif, homogenkan suspensi kuman dengan pipet dan tanamkan 0.1 ml pada seluruh permukaan media LJ.
- 5) Amati biakan. Pertumbuhan dalam 7 (tujuh) hari biasanya kontaminasi. Konfirmasi BTA, Gram dan inokulasi pada media agar darah.

Catatan:

- Suhu sangat dingin dapat membakar kulit. Pakailah sarung tangan saat pengambilan isolat.
- *Cryotube* mengandung sangat banyak *M. tbc*. Berhati-hatilah saat bekerja.
- Sisa suspensi kuman dapat dikembalikan ke dalam -70 °C.
- Makin sering keluar-masuk -70 °C, viabilitas kuman makin menurun.

5. IDENTIFIKASI MYCOBACTERIUM TUBERKULSIS COMPLEX (*M. tbc*)

Tujuan identifikasi adalah menentukan hasil biakan apakah *M. tbc* atau NTM sehingga pengobatan dapat segera dimulai. Metode untuk identifikasi *M. tbc* pun juga bervariasi, antara lain, pewarnaan Basil Tahan Asam (BTA) dengan *Ziehl-Neelsen* (ZN), uji biokimia, uji imunokromatografi dan uji molekuler. *Preliminary identification* atau identifikasi awal dapat dilakukan dengan pewarnaan BTA dengan ZN, sedangkan *definitive identification* atau identifikasi pasti dapat dilakukan dengan uji biokimia, uji imunokromatografi atau uji molekuler. Identifikasi dilakukan minimal dengan 2 (dua) metode pengujian. Isolat untuk identifikasi harus dipastikan murni dan tidak tercampur atau tidak terkontaminasi sehingga hasil identifikasi tepat dan akurat. Penggunaan kuman kontrol juga selalu disertakan untuk menjamin mutu dari uji identifikasi.

a. Pewarnaan Basil Tahan Asam (BTA) dengan Ziehl-Neelsen (ZN)

1) Tujuan

Pewarnaan ZN bertujuan untuk mendeteksi basil tahan asam (BTA) yaitu mikobakteri dengan pemeriksaan mikroskopis pada isolat klinis. Basilus yang baik yang hidup dan mati (dapat hidup dan tidak dapat hidup) akan tercat dengan metode ZN.

2) Prinsip

Perbedaan karakteristik antara mikobakteri dan mikroorganisme lain adalah dinding sel yang tebal dan berlilin (*waxy*) yang membuat penetrasi cat ke dalam sel menjadi sangat sulit. Jika cat terserap, maka tidak dapat langsung dihilangkan baik dengan alkohol asam yang kuat sebagai dekoloriser. Karena itu, mikobakteri disebut sebagai bakteri tahan asam dan sifat tahan asam ini dikaitkan dengan asam mikolat di dinding sel. Pewarnaan primer dengan *carbol fuchsin* karena ZN mengikat asam mikolat. Dekolorisasi dengan alkohol asam tidak melepaskan cat primer asam mikolat dari dinding sel, sehingga mikobakterium bisa mempertahankan warna cat merah. Pewarnaan counter (methylene blue) ditambahkan untuk mendapatkan kontras yang lebih baik dan membuat latar belakang untuk menyederhanakan fokus selama pemeriksaan.

3) Prosedur

Alat dan Bahan

- | | |
|---------------------------------------|---------------------------------------|
| - Kaca sediaan (<i>end frosted</i>) | - Wadah pembuangan berisi desinfektan |
| - Aplikator dari lidi atau ose | - Wadah pembuangan aplikator |
| - Botol isi pasir dan desinfektan | - Reagen Zn |
| - Lampu spiritus atau Bunsen | - Penjepit kayu |
| - Mikroskop | - Rak pewarnaan |

Cara Kerja

- a) Pembuatan Sediaan Apusan dari Media Biakan LJ dan MGIT Positif
 - (1) Beri label identitas sediaan pada preparat apus.
 - (2) Lakukan semua prosedur di dalam BSC.
 - (3) Jika media MGIT positif maka tabung MGIT di*vortex*, diamkan 5 – 10 menit, ambil 200 μ l (2 tetes) dengan pipet transfer disposibel dan teteskan ke atas preparat apusan. Ratakan apusan pada gelas obyek berbentuk oval dengan ukuran 1 x 2 cm.
 - (4) Jika dari media padat, teteskan 100 μ l aquadest steril dengan transfer pipet ke atas preparat apusan, tambahkan dan campur 2-3 koloni dengan jarum ose, dan ratakan.
 - (5) Biarkan apusan sampai kering.
 - (6) Fiksasi apusan dengan menggunakan penghangat pada 65 – 75°C sampai kering.

- b) Pewarnaan Sediaan
 - (1) Letakkan sediaan dengan bagian apusan menghadap ke atas pada rak yang ditempatkan di atas bak cuci atau baskom, antara satu sediaan dengan sediaan lainnya masing-masing berjarak kurang lebih 1 jari.
 - (2) Genangi seluruh permukaan sediaan dengan *carbol fuchsin*. Saring zat warna setiap kali akan melakukan pewarnaan sediaan.
 - (3) Panasi dari bawah dengan menggunakan sulut api setiap sediaan sampai keluar uap, jangan sampai mendidih
 - (4) Dinginkan selama minimal 5 menit.
 - (5) Bilas sediaan dengan air mengalir secara hati-hati dari ujung kaca sediaan. Jangan ada percikan ke sediaan lain.
 - (6) Miringkan sediaan menggunakan penjepit kayu atau pinset untuk membuang air
 - (7) Genangi dengan asam alkohol sampai tidak tampak warna merah *carbol fuchsin*. Jangan sampai ada percikan ke sediaan lain.
 - (8) Genangi permukaan sediaan dengan *methylene blue* selama 20-30 detik.
 - (9) Bilas sediaan dengan air mengalir. Jangan ada percikan ke sediaan lain.
 - (10) Miringkan sediaan untuk mengalirkan sisa *methylene blue*.
 - (11) Keringkan sediaan pada rak pengering. Jangan keringkan dengan kertas tisu.

- c) Pemeriksaan Sediaan Apusan dengan Mikroskop
 - (1) Sediaan apusan yang telah diwarnai dengan *Ziehl Neelsen* dan telah kering sempurna, maka dilanjutkan dengan pemeriksaan mikroskopis.
 - (2) Pembacaan sediaan apusan menggunakan mikroskop dengan lensa objektif 10x untuk menentukan fokus, kemudian pembacaan dengan lensa objektif 100x dan ditambahkan minyak imersi.

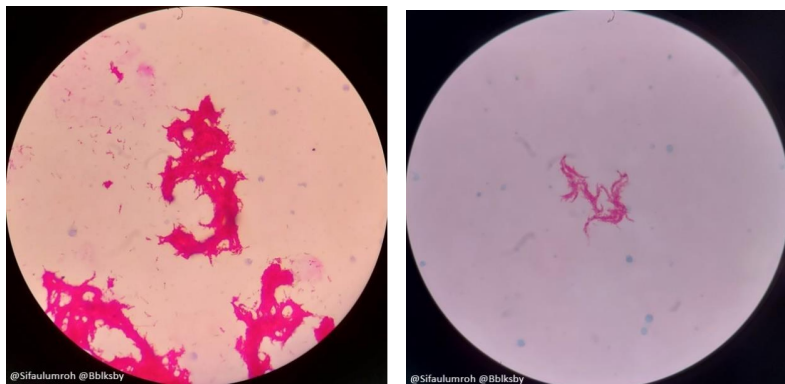
- (3) Morfologi bentukan yang terlihat adalah basil tahan asam (BTA) yang tercat merah dengan latar belakang warna biru. Variasi bentuk antara lain batang pendek sampai dengan filamen panjang, seringkali bengkak, atau bentukan manik-manik yang tercat tebal. Ada bentukan yang saling teragregasi (atau menempel) satu sama lain baik sisi ke sisi atau ujung ke ujung. Bakteri *M. tbc* yang ditumbuhkan dari media cair MGIT akan memberikan bentukan khas yaitu *formation cord* atau *serpentine cord* (bentukan ekor kuda).
- (4) Jika sediaan dari tabung positif menunjukkan bentukan bakteri lain seperti bentukan kokus, batang, kokobasil, *yeast* atau hifa dan berwarna biru. Gambaran seperti ini menunjukkan bahwa isolat tidak murni atau terkontaminasi oleh bakteri lain.
- (5) Pemeriksaan sediaan apusan dengan mikroskopis ini tidak bisa menentukan spesies *M. tbc* atau *NTM*.

d) Quality Control (QC)

- Kontrol positif : *M. tuberculosis* H37Rv ATCC 27294
/ H37Ra ATCC 25177
- Kontrol negatif : *M. fortuitum* ATCC 6841

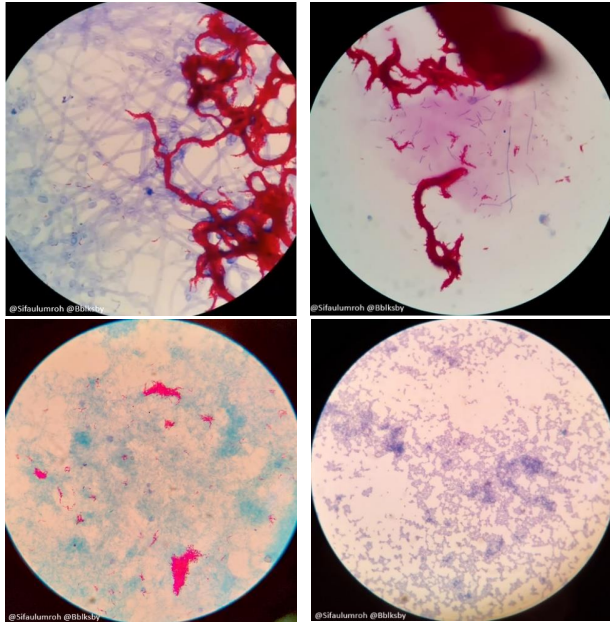
e) Pelaporan

Jika hasil QC baik, maka hasil dilaporkan sebagai BTA positif atau negatif.



Gambar 11. Bentukan “formation cord atau serpentine cord” pada pemeriksaan sediaan apusan dengan pewarnaan ZN.

(Sumber: koleksi gambar BBLK Surabaya)



Gambar 12. Bentuk “formation cord atau serpentine cord” pada pemeriksaan sediaan apusan dengan pewarnaan ZN dari tabung MGIT positif yang terkontaminasi

Keterangan gambar :

- Bentuk *serpentine cord* dan kontaminasi hifa dari tabung MGIT positif (kiri atas)
 - Bentuk *serpentine cord* dan kontaminasi bakteri batang dari tabung MGIT positif (kanan atas)
 - Bentuk *basil tahan asam (BTA) positif* dan kontaminasi bakteri batang dari tabung MGIT positif (kiri bawah)
 - Kontaminasi bakteri *kokus* dari tabung MGIT positif (kanan bawah)
- (Sumber: koleksi gambar BBLK Surabaya)

b. Uji Niacin

1) Tujuan:

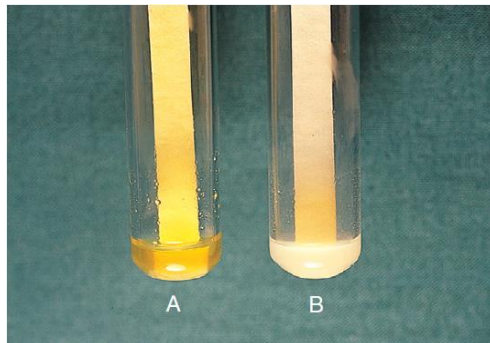
Untuk identifikasi *M. tbc* dengan cara mendeteksi asam nikotinat yang dihasilkan.

2) Prinsip:

Semua *Mycobacterium* menghasilkan asam nikotinat pada saat tumbuh. Kebanyakan galur *M. tuberculosis* dan beberapa galur *M. simiae* dan *M. chelonae* tidak mampu memetabolisme asam nikotinat tersebut, sehingga asam nikotinat dapat terakumulasi pada media. Jumlah asam nikotinat yang paling banyak terbentuk adalah pada media LJ. Oleh karena itu,

untuk uji niasin memerlukan isolat yang koloninya ditumbuhkan pada media LJ. Udara sangat penting pada metabolisme niasin karena itu tutup tabung biakan harus sedikit dilonggarkan selama proses inkubasi.

- 3) Prosedur Uji Niasin dengan *Paper Strip*
- Tambahkan 1-1,5ml air distilasi steril atau cairan saline ke dalam tabung biakan LJ yang berumur 4 minggu.
 - Gores media LJ beberapa kali dengan menggunakan ose atau jarum steril, sampai media LJ terbelah.
 - Miringkan tabung LJ sehingga seluruh permukaan LJ tertutupi cairan.
 - Diamkan 30 menit – 2 jam.
 - Ambil 0,6 ml cairan ekstrak menggunakan pipet dan masukkan ke dalam tabung steril lain.
 - Masukkan kertas strip niacin ke dalam tabung yang berisi cairan ekstrak. Perhatikan arah panah pada kertas strip harus mengarah ke bawah.
 - Tutup tabung tersebut hingga rapat.
 - Simpan tabung di suhu ruangan selama 15 – 20 menit.
 - Amati perubahan warna pada cairan ekstrak. Gunakan latar warna putih untuk mengamati perubahan warna dari cairan ekstrak.
 - Hasil Pengamatan:
 - Kontrol positif : warna cairan ekstrak berubah kuning.
 - Kontrol negatif : warna cairan ekstrak tidak berubah.
 - Quality Control (QC)*:
 - Kontrol positif : *M. tb* H37Rv ATCC 27294 atau H37Ra ATCC 25177
 - Kontrol negatif : *M. fortuitum* ATCC 6841



Gambar 13. Uji niasin dilakukan dengan strip kertas saring.
Keterangan Gambar
Hasil uji positif (A), cairan berubah menjadi kuning.
Hasil uji negatif (B), cairan tetap putih seperti susu atau bening.
(Scott's)

Catatan:

- Pilih *paper strip* yang telah direkomendasikan oleh WHO atau yang memiliki hasil meta-analisis paling sensitif.
- Perhatikan dan ikuti petunjuk penggunaan kertas strip pada masing-masing pabrik.
- Gunakan kontrol pada tiap pengerjaan. Kontrol positif menggunakan biakan *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Kontrol negatif menggunakan media LJ yang tidak ditanami spesimen/media steril.
- Asam nikotinat akan berdifusi ke dalam media. Jika permukaan media penuh dengan koloni kuman, maka proses ekstraksi asam nikotinat dengan aquades atau cairan salin akan menjadi tidak efektif. Media harus tergores untuk mendapatkan cairan ekstrak yang diinginkan.
- Jumlah koloni yang sangat sedikit juga menyebabkan negatif palsu. Pakailah subkultur dengan jumlah koloni minimal 50.
- Warna kuning akan lebih jelas jika pencampuran reagensia dan suspensi kuman dilakukan perlahan. Warna kuning akan tampak sebagai cincin di antara kedua larutan. Jika terkocok, warna kuning akan terencerkan menjadi lebih pudar.
- Metode ekstraksi asam nikotinat dari medium bermacam-macam. Ada yang diekstraksi pada suhu ruang selama 30 menit atau 24 jam dalam inkubator, dididihkan bahkan diotoklaf. Tiap laboratorium dapat melakukan optimasi dengan kuman standar.

c. Uji Para Nitro Benzoic Acid (PNB)

1) Tujuan:

Uji PNB bertujuan untuk membedakan antara *M. tbc* dan *Mycobacterium Other Than Tuberculosis* (NTM). Pertumbuhan *M. tbc* dihambat oleh asam p-nitrobenzoic (PNB) dengan konsentrasi 500 ug / ml, sedangkan NTM resistan terhadap PNB.

2) Prinsip:

Koloni terduga sebagai *M. tbc* dapat diuji dengan tabung yang berisi PNB dan tabung kontrol (tanpa PNB). Atau jika uji kepekaan terhadap OAT sedang dilakukan, tabung tambahan PNB dapat diatur pada saat yang bersamaan. Hasil PNB dapat digunakan untuk mengkonfirmasi identifikasi *M. tbc*.

Catatan: Tidak direkomendasikan melakukan uji PNB langsung dari hasil olahan dahak. Uji PNB disarankan menggunakan isolat terduga *M. tbc*.

3) Uji PNB pada Media Padat

(a) Alat dan Bahan

- Media LJ yang mengandung PNB. Cara pembuatan media mengandung PNB dapat dilihat pada cara pembuatan media dengan obat.
- Inkubator
- Rak tabung

(b) Cara Kerja

- (1) Ambil 100 ul suspensi 1 mg/ml stok dan inokulasi pada media LJ yang mengandung PNB dan satu tabung tanpa PNB.
- (2) Tutuplah botol agak longgar.
- (3) Sebarkan bahan pemeriksaan tersebut secara merata di atas permukaan media dengan cara menggerak-gerakkan botol.
- (4) Letakkan botol-botol pada rak dengan kemiringan 30° selama 24 jam pada inkubator dengan suhu 35 – 37 °C.
- (5) Setelah 24 jam, kencangkan tutup botol dan letakkan botol pada rak tabung dengan posisi tegak dan lanjutkan inkubasi.
- (6) Amati pertumbuhan *M. tbc* setiap minggu. Jika sesudah minggu ke-4 tidak terlihat adanya koloni, pengamatan dilakukan hingga minggu ke-8 sebelum hasilnya dinyatakan tidak ada pertumbuhan.
- (7) Catat hasil pengamatan setiap minggu pada buku catatan biakan.
- (8) Interpretasi:
 - Tidak ada pertumbuhan: *M. tbc*
 - Ada pertumbuhan: *Non-Tuberculous Mycobacterium* (NTM)

4) Uji PNB pada Media Cair

a) Alat dan Bahan

- Tabung MGIT 960
- *Growth Supplement* BACTEC MGIT
- PNB
- Saline steril

b) Preparasi PNB

Obat	PNB
Sigma #	72910-50G
Penyimpanan	2-8 °C
Potensi	>= 98%
Pelarut	Dimethyl formamide
Konsentrasi stok	25,000 µg/ml
Konsentrasi akhir pada MGIT	500 µg/ml
Konsentrasi yang diminta pada MGIT	41,500 µg/ml
Volume yang ditambahkan pada MGIT	166 µl

$$\text{Konsentrasi } (\mu\text{g/ml}) = \frac{\text{Berat (mg)} \times \text{Potensi } (\mu\text{g/mg})}{\text{Volume (ml)}}$$

p-nitrobenzoic acid ($\mu\text{g/ml}$)

Potensi per sertifikat analisis = tidak tersedia

Kemurnian = 100% = 1000 $\mu\text{g/mg}$

Pelarut: *dimethyl formamide*

Preparasi stok 25 mg/ml:

$$\frac{250 \text{ mg} \times 1000 \mu\text{g/mg}}{10 \text{ mL}} = 25,000 \mu\text{g/ml}$$

=> Simpan 0.4 mL pada 25 tabung kecil.

Konsentrasi akhir pada MGIT = 500 $\mu\text{g/ml}$

Konsentrasi akhir PNB yang diminta = 41,500 $\mu\text{g/ml}$

$$41,500 / 25,000 = 1.66$$

Tambahkan 166 μl dari konsentrasi stok 25,000 $\mu\text{g/ml}$ untuk mendapatkan konsentrasi akhir 500 $\mu\text{g/ml}$ pada tabung MGIT.

Catatan:

PNB dapat mengendap selama pembekuan dan atau setelah pencairan. Campur kembali sebelum digunakan.

- c) Preparasi koloni dari Media LJ
- (1) Tambahkan satu ose penuh organisme ke dalam kaldu 7H9 (saline steril) + *glass bead*.
 - (2) *Vortex* selama 3 menit dan kemudian diamkan selama 20 menit.
 - (3) Transfer supernatan ke botol 1 dan diamkan selama 15 menit.
 - (4) Pindahkan supernatan ke botol kedua dan sesuaikan dengan standar 0,5 MacFarland.
 - (5) Encerkan 1: 5 dengan saline steril dalam botol ketiga
- d) Preparasi Koloni dari Media MGIT
- (1) Ketika tabung MGIT memberi tanda positif, maka dianggap sebagai hari ke-0. Keluarkan dan lanjutkan inkubasi MGIT pada suhu 37 °C selama 24 jam. Uji kepekaan dapat dilakukan pada hari 1-5 setelah hari ke-1. Jika tabung memberi tanda positif lebih dari 5 hari, maka subbiakan ke dalam tabung MGIT 7 ml baru yang sudah diberi *growth supplement*.
 - (2) Homogenkan media MGIT dengan pipet steril dan pindahkan 4 ml ke botol.
 - (3) *Vortex* selama kira-kira 5 detik dan diamkan selama 10 menit
 - (4) Gunakan langsung tanpa dilusi jika hari 1 atau 2 atau dilusikan 1: 5 jika hari 3, 4 atau 5.

- e) Prosedur Uji PNB Pada Media Cair
- (1) Beri label pada 2 tabung MGIT (7ml) untuk setiap isolat dengan C dan P atau tambahkan tabung tambahan saat uji kepekaan SIRE.
 - (2) Tambahkan 800 μ l *growth suplement* ke masing-masing tabung.
 - (3) Tambahkan 166 μ l obat PNB.
 - (4) Tambahkan 100 μ l suspensi organisme yang telah dilarutkan ke 10 ml larutan saline steril ke dalam botol. Balikkan 3-4 kali untuk mencampur.
 - (5) Tambahkan 500 μ l suspensi organisme ini ke tabung kontrol.
 - (6) Tambahkan 500 μ l suspensi organisme ke dalam tabung PNB
 - (7) Tutup tabung dan balikkan 3-4 kali.
 - (8) Masukkan tabung ke dalam mesin MGIT di *AST Set Carrier* dan catat informasi pada lembar kerja.
 - (9) Interpretasi hasil:
 - Tidak ada pertumbuhan: *M. tbc*
 - Ada pertumbuhan: *Non-Tuberculous Mycobacterium* (NTM)
 - (10) Quality Control
 - a. Kontrol positif : *M. fortuitum* ATCC 6841
 - b. Kontrol negatif : *M. tuberculosis* H37Rv ATCC 27294 atau H37Ra ATCC 25177

d. Uji Imunokromatografi

1) Tujuan

Uji identifikasi cepat untuk membedakan antara *M. tbc* dengan *Mycobacterium Other Than Tuberculosis* (NTM) dengan menggunakan metode imunokromatografi.

2) Prinsip

Dinding sel bakteri *M. tbc* (kecuali: beberapa *substrain* *M. bovis* BCG) mensekresi suatu protein khusus (protein MPB64/MPT64). Uji imunokromatografi ini sederhana dan cepat berdasarkan reaksi antibodi monoklonal terhadap antigen MPB64/MPT64. Perangkat uji ini mengandung membran nitroselulosa pada pelat uji dengan antibodi monoklonal tikus anti-MPB64/MPT64 yang terkonjugasi ke partikel emas koloid untuk mendeteksi protein MPB64/MPT64. Apabila sampel ditambahkan ke perangkat uji, maka antigen MPB64/MPT64 akan membentuk kompleks antigen-antibodi, bermigrasi melintasi strip uji ke area reaksi, ditangkap antibodi MPB64/MPT64 spesifik kedua dan difiksasi ke membran. Hasil menunjukkan positif bila tampak visualisasi garis merah jambu ke merah-ungu dalam 15 menit. Uji ini memiliki sensitivitas (98,6%) dan spesifisitas (100%) yang sangat tinggi dibandingkan dengan tes biokimia standar.

3) Material

- Kit uji imunokromatografi komersial
- *Buffer* ekstraksi komersial atau buatan sendiri (KH_2PO_4 , NaCl, Tween 80)
- Tabung atau botol steril
- Timbangan analitik
- Wadah timbangan
- Air distilasi
- *Vortex*
- Timer
- Mikropipet 200 μL
- Tip steril berfilter 200 μL
- Cryovial steril 2 mL
- Loop 10 μL disposibel steril
- Wadah limbah dengan kantong biohazard dan disinfektan tuberkulosidal
- Spidol Permanen

4) Pembuatan *Buffer* Ekstraksi

(a) Formula *Buffer* Ekstraksi

- KH_2PO_4 - 0,01 M
- NaCl - 0,145 M
- Tween 80 - 0,01%

(b) Pembuatan 1 L *Buffer* Ekstraksi

- (1) Timbang 1,36 g KH_2PO_4 dengan timbangan analitik.
- (2) Timbang 8,5 g NaCl.
- (3) Larutkan bubuk dalam 500 mL air distilasi dalam botol volumetrik.
- (4) Tambahkan 100 μL Tween 80 dengan mikropipet; pipet beberapa kali untuk mengeluarkan semua Tween.
- (5) Aduk rata dan tambahkan air distilasi sampai volume akhir mencapai 1 L dalam tabung steril.
- (6) *Aliquot buffer* ke volume yang lebih kecil, misalnya 250 mL, sebelum diautoklaf.
- (7) Wadah diberi label: nama *buffer*, tanggal pembuatan, tanggal kedaluwarsa, nomor lot *batch*, dan inisial pembuat.
- (8) Sterilkan selama 15 menit pada suhu 121 °C, tekanan 15 psi.
- (9) Simpan *buffer* pada suhu 2-8 °C sampai dengan maksimal 6 (enam) bulan.
- (10) Sebelum digunakan, periksa *buffer* secara visual apakah kontaminasi atau penurunan kualitas dan biarkan pada suhu kamar.

- 5) Preparasi Koloni dari Biakan Media Cair (MGIT) Positif
 - (a) Tabung MGIT-BTA positif dalam waktu 5 hari.
 - (b) *Vortex* tabung MGIT yang tertutup rapat selama 30 detik untuk memastikan suspensi tercampur dengan baik.

- 6) Preparasi Koloni dari Biakan Media Padat (LJ) Positif
 - (a) Usia koloni 2-4 minggu dari biakan LJ.
 - (b) Tambahkan 200µL *buffer* ekstraksi komersial/buatan sendiri ke cryovial steril.
 - (c) Ambil beberapa koloni (kira-kira satu ose penuh) dengan *loop* 10 µL steril, dan campurkan dengan *buffer*, hindari mengerok media padat dan / atau kontaminan jika ada.
 - (d) *Vortex* cryovial selama 30 detik supaya homogen.
 - (e) Pastikan kekeruhan suspensi sesuai dengan standar 0,5 McFarland.
 - (f) Kekeruhan suspensi yang kurang dapat menyebabkan hasil negatif palsu

Catatan:

- Tabung MGIT positif dapat disimpan pada 2-37 °C sampai dengan 10 hari setelah positif dan dilakukan uji imunokromatografi; pengujian dapat dilakukan selama dua bulan tambahan ketika tabung disimpan pada -20 °C – 8 °C.
- Biakan positif dalam media cair dan koloni pada media padat bisa digunakan untuk uji imunokromatografi sampai dengan satu tahun bila disimpan pada -20 °C atau pada 2 – 8 °C.

- 7) Prosedur Uji Kromatografi
 - (a) Jika kit identifikasi diletakkan di lemari es, biarkan mencapai suhu kamar sebelum pengujian.
 - (b) Buka kit identifikasi dari kantong foil segera sebelum pengujian, letakkan pada permukaan datar dan beri label dengan tepat dengan nomor identifikasi sampel.
 - (c) Buka tabung yang berisi suspensi sampel.
 - (d) Transfer 100 µL spesimen ke area penempatan spesimen dengan tip pipet steril.
 - (e) Tutup dengan rapat tabung spesimen.
 - (f) Pasang *timer* selama 15 menit.
 - (g) Periksa area pembacaan alat setelah 15 menit dan catat hasil uji. Jangan menginterpretasikan uji setelah 60 menit.

- 8) Interpretasi Uji Kromatografi
 - (a) Jika terlihat pita/*band* berwarna merah - ungu pada kedua area bacaan yaitu tes (T) dan kontrol (C), spesimen diinterpretasikan sebagai positif. Hasil **POSITIF** menunjukkan reaksi antigen-antibodi MPB64/MPT64 dari *M. tbc*.

- (b) Jika tidak terlihat pita/*band* berwarna merah - ungu pada area tes (T), tetapi terlihat pada area kontrol (C), maka spesimen diinterpretasi sebagai **NEGATIF**. Hasil negatif menunjukkan adanya Non Tuberculosis Mycobacteria (NTM), juga dikenal sebagai *Mycobacteria Other Than Tuberculosis* (NTM).
- (c) Hasil tidak valid jika tidak terlihat pita/*band* merah-ungu pada area kontrol (C). Tes **INVALID** harus diulang.

9) Kontrol kualitas:

- a. Kontrol positif: *M. tb* H37Rv ATCC 27294 / H37Ra ATCC 25177
b. Kontrol negatif: *M. fortuitum* ATCC 6841

Meskipun sebagian besar *strain M. tbc* dapat diidentifikasi secara benar dengan alat uji yang menunjukkan sensitivitas tinggi (92,4-99,2%) dan spesifisitas (100%), tetapi pernah didapatkan beberapa *strain* uji dengan hasil negatif. Alasan kegagalan uji ini adalah tidak adanya antigen MPB64/MPT64 dalam media biakan, terbukti dengan adanya mutasi pada MPB64 yang dikode oleh gen *mpb64*.



Gambar 14. Uji identifikasi isolat dengan metode imunokromatografi TBC Ag MPT64 dengan hasil positif (atas) dan negatif (bawah)
(Sumber : koleksi gambar BBLK Surabaya)

6. UJI KEPEKAAN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* COMPLEX (*M. tbc*) TERHADAP OBAT ANTI TUBERKULOSIS

Uji kepekaan *M. tbc* terhadap OAT bertujuan untuk menentukan jenis obat yang akan diberikan kepada pasien. Hasil strain sensitif terhadap obat tertentu menunjukkan bahwa pengobatan dengan obat tersebut kemungkinan besar akan berhasil. Jika strain resistan, maka kemungkinan besar pengobatan dengan obat tersebut akan gagal sehingga harus menggunakan obat lain. Uji kepekaan terhadap *M. tbc* harus terstandarisasi dan dapat diandalkan untuk memberikan panduan dalam merawat pasien. Hal ini sangat penting karena pemberian OAT yang tidak tepat akan menyebabkan kegagalan pengobatan dan meningkatkan penyebaran TBC MDR dan TBC XDR.

Ada 2 (dua) pendekatan untuk menentukan kepekaan *M. tbc* terhadap obat yaitu metode fenotipik dan genotipik. Metode fenotipik berkaitan erat dengan biakan bakteri *M. tbc* pada media yang ditambahkan antibiotik untuk menilai apakah ada pertumbuhan atau hambatan dari *M. tbc* dan menentukan resistansi berdasarkan respon organisme saat terpapar obat. Metode genotipik didasarkan pada deteksi gen atau mutasi spesifik yang diketahui terkait dengan resistansi terhadap obat anti Tuberkulosis. Keuntungan uji kepekaan konvensional dapat memberikan hasil definitif dan profil sensitivitas terhadap OAT dengan lengkap. Tetapi, metode fenotipik ini mempunyai kelemahan antara lain waktu pengerjaan cukup lama, membutuhkan infrastruktur yang mutakhir, staf berkualitas dan *quality control* yang ketat.

Uji kepekaan secara fenotipik dapat dilakukan secara langsung (direk) atau tidak langsung (indirek) dalam media padat atau cair. Metode langsung melibatkan inokulasi media yang mengandung obat dan bebas obat secara langsung dengan spesimen terkonsentrasi. Metode tidak langsung melibatkan inokulasi media yang mengandung obat dengan isolat atau hasil biakan murni yang sebelumnya telah ditanam dari spesimen. 3 (tiga) metode yang umum digunakan antara lain metode proporsi, konsentrasi absolut dan rasio resistansi. Untuk obat anti-TBC lini pertama, hasil yang diperoleh tidak berbeda bermakna di antara ketiga metode tersebut. WHO dan CDC menganggap metode proporsi tidak langsung (*indirect proportion method*) sebagai pemeriksaan *gold standard* untuk menentukan resistansi. Metode ini membutuhkan waktu beberapa minggu karena sifat pertumbuhan *M. tbc* yang lambat. Pertumbuhan organisme pada media kontrol dibandingkan dengan pertumbuhan pada media obat untuk mengetahui sensitivitas atau resistansi terhadap obat anti-TBC.

Metode genotipik mendeteksi perubahan pada kromosom *M. tbc* yang telah terbukti berkaitan dengan resistansi. Metode yang paling banyak digunakan dan paling mudah adalah Tes Cepat Molekuler (TCM; menggunakan alat Xpert MTB/RIF). Uji ini selain dapat mendeteksi bakteri *M. tbc*, juga dapat mendeteksi resistansi terhadap rifampicin (RIF), dan hasil tersedia dalam waktu hanya beberapa jam. Resistansi RIF sering digunakan sebagai prediktor TBC-MDR; meskipun nilai prediksi positif bervariasi berdasarkan prevalensi organisme

tersebut. Di banyak studi, resistansi terhadap RIF dikaitkan dengan resistansi terhadap isoniazid (INH) sehingga alat TCM ini diandalkan untuk mendeteksi TBC-MDR. Uji TCM telah didukung oleh WHO, disetujui oleh FDA, dan dapat digunakan pada spesimen pernapasan langsung atau sedimen dahak terkonsentrasi serta spesimen ekstra paru.

REKOMENDASI UJI KEPEKAAN OBAT TUBERKULOSIS

Strategi *The End TBC* menyerukan diagnosis dini dan pengobatan tepat untuk orang dari segala usia yang diduga memiliki bentuk TBC apa pun. Hal ini memerlukan jaminan akses kepada tes diagnostik cepat yang sudah direkomendasikan WHO dan akses universal terhadap uji kepekaan untuk semua pasien dengan tanda dan gejala TBC.

Uji kepekaan terhadap obat anti-TBC menggunakan konsentrasi kritis (*critical concentration*) untuk menentukan sensitivitas atau resistansi dari kultur *M. tbc*. Konsentrasi kritis didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dari obat anti-TBC secara *in vitro* yang akan menghambat pertumbuhan 99% strain *M. tbc wild type* secara fenotipik. Konsentrasi kritis ini didasarkan pada tinjauan sistematis data konsentrasi hambat minimum (*minimum inhibitory concentration*=MIC) secara fenotip dari *wild type* dan non *wild type*, termasuk data sekuensing terkait gen resistansi yang relevan. Obat-obatan yang termasuk dalam tinjauan antara lain obat lini pertama (tabel 10) yang direkomendasikan untuk pengobatan TBC sensitif obat dan obat lini kedua (tabel 11) antara lain amikacin, clofazimine, bedaquiline, cycloserine, terizidone, linezolid, delamanid, dan fluoroquinolone (levofloxacin, moxifloxacin) yang digunakan untuk pengobatan TBC RR dan TBC MDR. Media yang digunakan adalah *Lowenstein Jensen, Middlebrook 7H10 / 7H11* dan BACTEC™ *Mycobacterial Growth Indicator Tube*™ 960.

Tabel 11. Konsentrasi kritis (*critical concentration/cc*) obat lini pertama yang direkomendasikan untuk terapi TBC sensitif obat.

Obat	Singkatan	Konsentrasi kritis (cc) (µg/ml) uji kepekaan dengan media			
		LJ ^a	7H10 ^a	7H11 ^a	MGIT ^a
Rifampicin	RIF	40	0,5	1	0,5 ^b
isoniazid	INH	0,2	0,2	0,2	0,1
Ethambutol ^d	E	2	5	7,5	5
Pyrazinamide ^e	PZA	-	-	-	100

Keterangan :

^a Metode yang direkomendasikan adalah proporsional indirek. Metode lain (*resistance ratio* atau *absolute concentration*) pada media padat belum divalidasi secara adekuat untuk obat anti-TBC.

^b Keterbatasan BACTEC MGIT 960 adalah tidak dapat mendeteksi resistansi rifampicin yang signifikan secara klinis pada isolat tertentu. Sequencing DNA merupakan metode paling baik untuk deteksi resistansi rifampicin (mutasi gen *rpoB*).

^c Pasien dengan *M. tuberculosis* resistan terhadap INH pada konsentrasi kritis dapat diobati secara efektif dengan INH dosis tinggi. Konsentrasi INH lebih tinggi (0,4 µg/ml dalam MGIT) digunakan untuk identifikasi jenis bakteri yang resistan terhadap INH dosis tinggi. Tetapi, deteksi molekuler lebih reliabel untuk memprediksi hasil pasien dibandingkan uji kepekaan fenotipik. INH belum mempunyai konsentrasi *breakpoint* klinis.

^d Uji kepekaan fenotipik terhadap ethambutol tidak direkomendasikan karena menunjukkan hasil yang inkonsisten.

^e Uji kepekaan fenotipik terhadap pyrazinamid yang direkomendasikan hanya dengan BACTEC MGIT 960, meskipun masih banyak dilaporkan hasil positif palsu. Inokulum yang tepat sangat penting untuk menjamin reliabilitas uji ini. Metode terbaik untuk deteksi resistansi pyrazinamid adalah sequencing DNA untuk melihat mutasi gen *pncA*, meskipun terdapat bukti bahwa mutasi gen non-*pncA* juga bisa menyebabkan resistansi.

Tabel 12. Konsentrasi kritis dan *breakpoint* klinis obat yang direkomendasikan pengobatan TBC RR dan TBC MDR.

Golongan OAT	Obat	Singkatan	Konsentrasi kritis (CC) (µg/ml) uji kepekaan dengan media			
			LJ	7H10	7H11	MGIT
GROUP A	Levofloxacin (CC)	LFX	2	1	-	1
	Moxifloxacin (CC)	MFX	1	0,5	0,5	0,25
	Moxifloxacin (CB)	MFX	-	2	-	1
	Bedaquiline	BDQ	-	-	0,25	1
	Linezolid	LZD	-	1	1	1
GROUP B	Clofazimine	CFZ	-	-	-	1
	Cycloserine	CS	-	-	-	-
	Terizidone	TZD	-	-	-	-
GROUP C	Ethambutol*	E	2	5	7,5	5
	Delamanid	DLM	-	-	0,016	0,06
	Pyrazinamid	PZA	-	-	-	100
	Imipenem-cilastatin	IMP/CLN	-	-	-	-
	Meropenem	MPM	-	-	-	-
	Amikacin	AMK	30	2	-	1
	(atau Streptomycin)	(S)	4	2	2	1
	Ethionamide	ETO	40	5	10	5
	Prothionamide	PTO	40	-	-	2,5
	Para-aminosalicylic acid	PAS	-	-	-	-

Keterangan :

*Uji ethambutol sudah tidak direkomendasikan karena tidak reliabel dan tidak reproduksibel.

Petunjuk teknis ini akan membahas uji kepekaan obat anti-TBC pada media padat LJ, *Middlebrook 7H10 / 7H11* dan media cair BACTEC™ *MGIT*™ 960 sesuai dengan buku manual WHO tahun 2018.

a. Uji Kepekaan pada Media Padat/Solid

1) Metode Proporsional pada Media Lowenstein-Jensen (LJ)

Metode proporsional dapat digunakan dengan media LJ untuk menentukan apakah isolat *M. tuberculosis* suseptibel atau sensitif terhadap obat anti-TBC. Media yang mengandung obat dengan konsentrasi kritis diinokulasi suspensi biakan (dilusi 10⁻² dari suspensi 1 McFarland) dan

media kontrol tanpa obat diinokulasi dengan suspensi biakan (dilusi 10^{-4} dari suspensi 1 McFarland). Pertumbuhan (mis. jumlah koloni) pada media obat dibandingkan dengan pertumbuhan pada media kontrol tanpa obat. Rasio jumlah koloni pada media obat dengan jumlah koloni pada media kontrol tanpa obat (dikoreksi dengan faktor dilusi) dihitung dan proporsi dinyatakan sebagai persentase. Hasil sementara untuk isolat yang suseptibel atau sensitif dapat dibaca setelah 3-4 minggu inkubasi, sedangkan hasil definitif dapat dibaca setelah 6 minggu inkubasi. Hasil resistansi dapat dilaporkan dalam 3-4 minggu. Uji kepekaan obat lini kedua mirip dengan uji kepekaan obat lini pertama dalam hal persiapan media, suspensi bakteri dan dilusi, inokulasi ke media, inkubasi biakan, serta jadwal pembacaan dan pelaporan.

a) Persiapan media LJ

Lihat Bab 4. Biakan *M. tuberculosis*, Sub bab c. media biakan (hal 58).

b) Obat anti TBC dan konsentrasi kritis untuk uji kepekaan

Obat anti-TBC yang direkomendasikan untuk uji kepekaan dengan media LJ dan konsentrasi kritis yang digunakan adalah

- Isoniazid 0,2 mg/L
- Rifampicin 40 mg/L
- Ethambutol 2 mg/L
- Levofloxacin 2 mg/L
- Moksifloxacin 1 mg/L
- Amikacin 30 mg/L
- Streptomisin 4 mg/L

Obat baru seperti bedaquilin, linezolid, dan clofazimine belum divalidasi untuk uji kepekaan menggunakan media LJ. Bedaquilin diketahui mengikat secara signifikan terhadap protein.

Catatan:

Formulasi murni dari obat yang diuji harus digunakan untuk menyiapkan medium. Obat yang akan diuji harus disimpan sesuai dengan instruksi pabrikan. Berat obat dalam bentuk serbuk harus dihitung untuk setiap preparasi berdasarkan potensi (aktivitas) yang disediakan oleh pabrikan.

c) Langkah pembuatan *stock solution* (SS) obat dan *working solution* (WS) obat pada media LJ.

- (1) Baca potensi atau aktivitas spesifik obat sesuai dengan sertifikat analisis obat.
- (2) Masukkan potensi tersebut ke dalam perhitungan berat obat untuk mendapatkan perhitungan jumlah bubuk obat yang digunakan.

Contoh:

Potensi obat A berdasarkan sertifikat analisis adalah 994 µg/mg, maka untuk mendapatkan 100 mg obat A murni adalah

$$100 \text{ mg} \times \frac{1}{0,994} = 100,60 \text{ mg}$$

- (3) Gunakan salah satu formula berikut untuk menimbang jumlah obat dalam volume pengencer yang diperlukan untuk mendapatkan *stock solution (SS)* yang diinginkan.

$$\text{Berat (mg)} = \frac{\text{Volume (ml)} \times \text{Konsentrasi (µg/ml)}}{\text{Potensi (µg/mg)}}$$

Contoh :

Perhitungan *stock solution (SS)* obat A sebesar 10.000 µg/ml adalah

$$\begin{aligned} \text{Volume (ml)} &= \frac{100,60 \text{ mg} \times 994 \text{ µg/ml}}{10,000 \text{ (µg/ml)}} \\ &= 9,99 \approx 10 \text{ ml} \end{aligned}$$

Maka volume pengencer yang diperlukan adalah 10 ml.

- (4) Larutan SS disterilkan dengan filter membran disposibel.
(5) Pembuatan WS obat A melalui dilusi yang dilakukan secara steril.

Contoh:

Perhitungan WS obat A sebesar 0,2 µg/ml adalah

Konsentrasi 10.000 µg/ml (SS)	100,60 mg obat A + 10 ml aquades steril
Konsentrasi 1.000 µg/ml (lar P)	0.5 ml SS + 4,5 ml aquades steril
Konsentrasi 100 µg/ml (lar Q)	0,5 ml lar P + 4,5 ml aquades steril
Konsentrasi 20 µg/ml (lar R)	1 ml lar Q + 4 ml aquades steril
Konsentrasi 0,2 µg/ml (WS)	1 ml lar R + 99 ml media LJ

Catatan :

- SS dialiquot dalam *cryo tube* steril dan disimpan pada -70° C sehingga dapat bertahan selama 2 tahun
- WS dialiquot sesuai kebutuhan dan disimpan pada -20° C sehingga dapat bertahan selama 3 bulan.
- *Cryo tube* diberi catatan nama obat, dilusi & tanggal pembuatan.

Tabel 13. Konsentrasi dan pelarut yang dibutuhkan untuk persiapan obat lini pertama dan kedua yang dicampurkan dengan 500 ml media Lowenstein Jensen (*guideline* WHO)

Jenis	Konsentrasi akhir obat anti TBC ($\mu\text{g/ml}$)	Stock solution dan pelarut	Dilusi sampai ke media LJ
Obat lini pertama	Isoniazid (0,2)	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 20 mg INH pada 40 ml aquades steril – 500 $\mu\text{g/ml}$ (lar A) Dilusikan 2 ml lar A hingga volume akhir 50 ml aquades steril – 20 $\mu\text{g/ml}$ (lar B) 	Tambahkan 5 ml lar B hingga volume akhir 500 ml media LJ
	Rifampicin (40)	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 80 mg/potensi dalam 5 ml methanol absolut – 1.600 $\mu\text{g/ml}$ Dilusikan lebih lanjut hingga volume akhir 5 ml etanol 95% - 800 $\mu\text{g/ml}$ (lar B) (sterilkan sendiri) 	Tambahkan 2,5 ml lar B hingga volume akhir 500 ml media LJ
	Ethambutol (2)	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 10 mg EMB dalam 50 ml aquades steril (lar A) – 200 $\mu\text{g/ml}$ 	Tambahkan 5 ml lar A hingga volume akhir 500 ml media LJ
Obat lini kedua	Levofloxacin (2)	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 10 mg LFX dalam 5 ml 0,1 M NaOH steril – 2.000 $\mu\text{g/ml}$ (lar A) Dilusikan 1 ml lar A hingga volume akhir 10 ml aquades steril – 200 $\mu\text{g/ml}$ (lar B) 	Tambahkan 5 ml lar B hingga volume akhir 500 ml media LJ
	Moxifloxacin (1) <i>Critical concentration</i>	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 10 mg MFX dalam 5 ml 0,1 M NaOH steril – 2.000 $\mu\text{g/ml}$ (lar A) Dilusikan 1 ml lar A hingga volume akhir 20 ml aquades steril – 100 $\mu\text{g/ml}$ (lar B) 	Tambahkan 5 ml lar B hingga volume akhir 500 ml media LJ
	Amikacin (30)	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 30 mg AMK dalam 10 ml aquades steril – 3.000 $\mu\text{g/ml}$ (lar A) 	Tambahkan 5 ml lar A hingga volume akhir 500 ml media LJ
	Streptomycin (4)	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 20 mg/potensi STR dalam 50 ml aquades steril – 4.000 $\mu\text{g/ml}$ (lar A) Dilusikan 5 ml lar A hingga volume akhir 50 ml aquades steril – 400 $\mu\text{g/ml}$ (lar B) 	Tambahkan 5 ml lar B hingga volume akhir 500 ml media LJ

Catatan :

- NaOH, Natrium hidroksida
- 1 M NaOH = larutkan 40 gram NaOH dalam 1 liter aquades steril (atau larutkan 4 gram dalam 100 ml aquades steril); dilusikan 1:10 untuk mencapai 0,1 M.

d) Pembuatan suspensi *Mycobacterium*

Uji kepekaan indirek dilakukan dengan isolat primer atau sub kultur dari media LJ. Isolat primer *fresh* atau baru lebih direkomendasikan karena karakteristik isolat subkultur sering mengalami perubahan, terutama jika dilakukan subkultur berulang. Usia isolat yang dianjurkan adalah 1-2 minggu setelah tumbuh. Apabila pertumbuhan ≥ 2 minggu, maka lakukan subkultur dan gunakan isolat subkultur untuk uji kepekaan. Perhatikan penggunaan APD dan penerapan *safe working practice*.

Prosedur :

- Ambil koloni representatif sebanyak mungkin. Jangan sampai mengerok media karena residu media akan membuat kekeruhan suspensi yang salah sehingga mengganggu interpretasi.
- Pindahkan koloni ke tabung kaca yang berisi 5-6 ml salin steril normal (NaCl 0,85%). Gunakan volume 0,5-1,0 ml terlebih dahulu untuk memudahkan homogenisasi dan meminimalkan penggumpalan.
- Homogenisasi suspensi dengan 5-10 *glass bead* ukuran 3 mm kemudian vortex selama 2-3 menit. Jika vortex tidak tersedia, tabung bisa dikocok dengan tangan. Pastikan tutup tabung rapat.
- Diamkan tabung selama 30 menit supaya gumpalan bakteri mengendap. Tanpa mengganggu endapan, ambil 2-4 ml supernatant dan pindahkan ke tabung steril.
- Sesuaikan kekeruhan suspensi dengan standar 1 McFarland untuk uji kepekaan. Pastikan benar-benar homogen, tanpa gumpalan yang terlihat. Suspensi bakteri sesuai dengan sekitar 1 mg massa bakteri basah / ml (sekitar satu loop penuh dengan diameter bagian dalam 3 mm). Kekeruhan suspensi diatur secara visual dengan cara membandingkan standar referensi 1 McFarland.

Pembuatan standar McFarland

Bahan yang dibutuhkan antara lain BaCl_2 0,1 g dan H_2SO_4 pekat 1 ml. Cara pembuatan adalah sebagai berikut:

- i. Siapkan larutan 1% BaCl_2 . Larutkan 0.1 g barium klorida dalam 10 ml aquades (larutan 1).
- ii. Siapkan larutan 1% H_2SO_4 . Campur 1 ml asam sulfat pekat dengan 99 ml aquades secara perlahan (larutan 2). Selalu tambahkan asam sulfat ke air. Bekerjalalah seperti menangani asam klorida. Asam sulfat adalah asam kuat.
- iii. Campur larutan 1 dan larutan 2 dengan komposisi seperti dalam tabel di bawah.

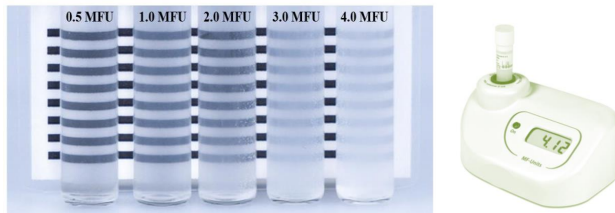
Tabel 14. Komposisi campuran barium klorida dan asam sulfat untuk mencapai standar kekeruhan McFarland yang berbeda dan korelasi dengan jumlah bakteri per mililiter suspensi

Kekeruhan McFarland	Volume (ml)		Jumlah bakteri / ml ($\times 10^8$)
	BaCl ₂ (1%)	H ₂ SO ₄ (1%)	
0,5	0,5	99,5	1,5
1	1	99	3
2	2	98	6
3	3	97	9
4	4	96	12
5	5	95	15

(1) Masukkk

- Masukkan 5-10 ml standar ke dalam tabung dengan dinding bening, rata dan cukup lebar dan sama dengan tabung yang akan dipakai untuk membuat inokulum. Tutup dengan rapat.
- Untuk membandingkan kepekatan inokulum dan standar, letakkan tabung berisi kuman sesuai standar McFarland dengan latar belakang hitam yang tidak mengkilat. Volume pembanding dan yang dibandingkan harus sama. Amati titik tengah larutan sejajar mata pengamat. Kocok dahulu standar sebelum dibandingkan dengan suspensi inokulum.
- Standar harus diganti tiap 6 bulan atau jika telah ada gumpalan.

McFarland Standards



Gambar 15. Standar kekeruhan McFarland secara visual (kiri) dan nephelometer (kanan)

Sumber: (www.bioanalytica.de, n.d.)

e) Dilusi suspensi dan inokulasi pada media LJ

Prosedur:

- Buat dilusi 10 kali lipat serial dari suspensi standar yaitu 1 ml suspensi bakteri ditambah dengan 9 ml aquades steril atau salin normal (0,85% natrium klorida) dan homogenkan.
- Dilusi 10^{-2} (untuk kontrol 1) dan 10^{-4} (untuk kontrol 2) harus diinokulasi sebagai GC (yaitu, media LJ tanpa obat). Beberapa laboratorium menginokulasi duplo tabung LJ untuk kontrol 1 dan kontrol 2.
- Satu tabung dengan media yang mengandung masing-masing obat diinokulasi dengan hanya dilusi 10^{-2} . Volume inokulum adalah 0,1 ml.

- Inokulum harus ditempatkan di tengah dua pertiga dari media menghindari tepi. Pastikan semua tabung berlabel.

f) Inkubasi

Setelah inokulasi, tabung dimiringkan 30° dan diinkubasi pada 37 °C ± 1 °C. Beberapa laboratorium menginkubasi tabung dengan tutup ulir sedikit longgar untuk memungkinkan penguapan inokulum. Tutup dikencangkan setelah 24-48 jam dan tabung diinkubasi dengan posisi tegak selama sekitar 6 minggu. Hati-hati pada kasus TBC MDR dan TBC XDR.

g) Pemeriksaan biakan/kultur

Hasil dapat dibaca dengan langkah 1 atau langkah 2. Hasil dibaca pada hari ke-21, 28 dan 40 setelah inokulasi.

Langkah 1

- Hitung jumlah total koloni yang tumbuh pada tabung berbeda. Kontrol 1 biasanya memiliki pertumbuhan konfluen, sedangkan kontrol 2 seharusnya memiliki koloni yang dapat dihitung (sekitar 20-100 koloni). Jika dua tabung telah diinokulasi sebagai kontrol, maka rata-rata jumlah koloni dari dua tabung tersebut digunakan untuk perhitungan.
- Proporsi bakteri basil resistan dihitung dengan membandingkan jumlah pada Kontrol 1 (dilusi 10⁻²) dengan jumlah pada media yang mengandung obat anti-TBC (dilusi 10⁻²). Kemudian, persentase dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\frac{\Sigma \text{ koloni pada media obat}}{\Sigma \text{ koloni pada kontrol 1 (dilusi } 10^{-2})} \times 100$$

Contoh :

1. Tabung GC (dilusi 10⁻²) = 80 koloni.
2. Tabung dengan obat TBC = 6 koloni.
3. $6/80 \times 100 = 7,5\%$, hasil = strain resistan.

Langkah 2

Jika kontrol 2 (dilusi 10⁻⁴) = koloni yang bisa dihitung, maka jumlah koloni dikalikan 100 dan bandingkan angka ini dengan jumlah koloni pada Kontrol 1 (tabung telah diinokulasi dengan dilusi 10⁻²); Kontrol 1 harus memiliki pertumbuhan yang konfluen.

Contoh:

1. Kontrol 1 = pertumbuhan konfluen, kontrol 2 = 80 koloni.
2. Tabung dengan obat TBC = 6 koloni (dilusi 10⁻²).
3. Kontrol 2 (dilusi 10⁻⁴) = 80 koloni. Untuk perkiraan jumlah kontrol 1 (dilusi 10⁻²), jumlah koloni dikalikan 100 pada kontrol 2. Jumlah total = 8.000 koloni (konversi ini memperkirakan

jumlah koloni pada dilusi 10⁻² sehingga rumus di atas dapat digunakan).

4. $6/8.000 \times 100 = 0,075\%$, hasil = strain sensitif.

Catatan:

Jangan hitung koloni yang tumbuh hanya di bagian atas media karena mengindikasikan bahwa obat TBC telah diinaktifkan di area tersebut. Jumlah koloni pada kontrol 1 harus sekitar 100x dari jumlah koloni pada kontrol 2. Hal ini mengindikasikan dilusi 1:100 telah dipreparasi dengan benar.

h) Interpretasi dan pelaporan hasil

- Hasil interpretasi menggunakan metode proporsi 1%. Hal ini berarti jika rasio jumlah koloni pada media yang mengandung obat TBC dibandingkan jumlah koloni pada media kontrol adalah 1% atau lebih populasi, maka interpretasi dilaporkan sebagai resistan. Jika rasio kurang dari 1% maka hasil uji kepekaan dilaporkan sebagai sensitif.
- Jika hari ke 21 atau 28 rasio jumlah koloni media dengan obat dibandingkan koloni pada media tanpa obat adalah $\geq 1\%$, maka dilaporkan resistan. Apabila tidak ada pertumbuhan koloni pada media dengan obat, sedangkan kontrol 1 terdapat pertumbuhan konfluen, maka dilaporkan sensitif tanpa pembacaan lebih lanjut. Kecuali dari dua hal tersebut, maka semua hasil dilaporkan setelah hari ke 40.
- Hari ke 28 jika kontrol 1 atau kontrol 2 tumbuh ≤ 20 koloni, maka mengindikasikan bahwa jumlah inokulum pada media kurang. Jika ada pertumbuhan pada media dengan obat maka dilaporkan resistan. Apabila tidak ada pertumbuhan pada media dengan obat, uji kepekaan harus diulang dengan inokulum baru.
- Jika kontrol 2 ada pertumbuhan konfluen, maka inokulum pada media kemungkinan berlebihan dan uji kepekaan harus diulang. Inokulum berlebih akan memungkinkan pertumbuhan pada media dengan obat dan tidak bisa diinterpretasikan sebagai resistan. Akan tetapi, jika tidak ada pertumbuhan pada media dengan obat, maka hasil dilaporkan sebagai sensitif.
- Hasil uji kepekaan harus dilaporkan hanya sebagai sensitif atau resistan sehingga dapat digunakan oleh klinisi. Hasil harus dilaporkan sesegera mungkin setelah uji selesai. Hasil dapat dilaporkan setelah 3 minggu jika ada pertumbuhan pada media dengan obat dan seluruh parameter dapat terpenuhi.

2) Metode Proporsional pada Media Middlebrook 7H10 atau 7H11 agar

Metode proporsional bisa digunakan pada media Middlebrook 7H10 agar (7H10) atau Middlebrook 7H11 agar (7H11) untuk menentukan apakah isolat *M. tuberculosis* tersebut sensitif terhadap obat anti-TBC. Suspensi standar

dan dilusi spesifik disiapkan, kemudian diinokulasikan pada media dengan dan tanpa obat. Setelah inkubasi 3-4 minggu, pertumbuhan pada media dengan obat dibandingkan dengan media kontrol tanpa obat. Rasio jumlah koloni keduanya dihitung (koreksi untuk dilusi) dan proporsi dilaporkan dalam bentuk persentase. Isolat resistan jika proporsi jumlah koloni pada media dengan obat terhadap jumlah koloni pada media kontrol adalah $\geq 1\%$.

a) Persiapan media

Media yang direkomendasikan adalah 7H10 atau 7H11 agar. Kedua media dapat digunakan untuk uji kepekaan bakteri *M. tbc* terhadap OAT lini pertama maupun kedua, tetapi media 7H11 agar lebih cocok untuk pertumbuhan strain yang resistan terhadap INH. Uji kepekaan sering menggunakan *plate* (cawan petri) dengan pemisah kuadran dari plastik (**penting:** bedaquilin hanya boleh diletakkan pada *plate* dari polystyrene atau kaca). Pemisah kuadran tersebut untuk memisahkan antara media tanpa obat (kontrol) terhadap media dengan obat. Middlebrook 7H10 atau 7H11 disiapkan dari bahan dasar terdehidrasi sesuai dengan petunjuk pabrikan. Setelah media siap, perlu ditambahkan suplemen antara lain asam oleic, albumin, dextrose, dan catalase (OADC) yang merupakan kebutuhan esensial pertumbuhan bakteri *M. tbc*. Setiap kuadran *plate* mengandung 5 ml media sehingga volume 500 ml media dapat memenuhi 100 *plate*. Prosedur pembuatan media dapat dilihat pada Bab 4. Biakan *M. tbc*, Sub bab c. media biakan (hal 59).

b) Obat anti TBC dan konsentrasi kritis untuk uji kepekaan

Konsentrasi obat yang digunakan untuk pengujian merupakan konsentrasi kritis masing-masing obat pada media 7H10 dan 7H11 agar (tabel 14).

Tabel 15. Konsentrasi kritis obat pada media 7H10 dan 7H11 agar

Obat	7H10 agar ($\mu\text{g/ml}$)	7H11 agar ($\mu\text{g/ml}$)
Isoniazid	0,2	0,2
Rifampicin	0,5	1
Ethambutol	5	7,5
Levofloxacin	1	-
Moxifloxacin (CC)	0,5	0,5
Moxifloxacin (CB)	2	-
Bedaquiline	-	0,25
Linezolid	1	1
Delamanide	-	0,016
Amikacin	2	-
Streptomycin	2	2

Catatan: bedaquilin hanya boleh diletakkan pada wadah yang mengandung bahan polystyrene atau kaca, baik saat pembuatan *stock solution*, *working solution* dan penuangan pada *plate*.

c) Langkah pembuatan *stock solution* (SS) obat dan *working solution* (WS) obat pada media 7H10 dan 7H11

Prosedur yang dilakukan sama dengan *Langkah pembuatan stock solution (SS) obat dan working solution (WS) obat pada media LJ hal 92-93*.

Tabel 16. Konsentrasi dan larutan yang diperlukan untuk preparasi OAT lini satu dan dua pada 500 ml media 7H10 agar

Jenis	Konsentrasi akhir obat anti TBC ($\mu\text{g/ml}$)	<i>Stock solution</i> dan pelarut	Dilusi sampai ke media 7H10
Obat lini pertama	Isoniazid (0,2)	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 20 mg INH pada 40 ml aquades steril – 500 $\mu\text{g/ml}$ (lar A) Dilusikan 2 ml lar A hingga volume akhir 40 ml aquades steril – 20 $\mu\text{g/ml}$ (lar B) 	Tambahkan 5 ml lar B hingga volume akhir 500 ml media 7H10
	Rifampicin (0,5)	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 10 mg/potensi dalam 5 ml methanol absolut (DMSO)– 2.000 $\mu\text{g/ml}$ (lar A) Dilusikan 1 ml lar A hingga volume akhir 20 ml etanol 95% - 100 $\mu\text{g/ml}$ (lar B) (sterilkan sendiri) 	Tambahkan 2,5 ml lar B hingga volume akhir 500 ml media 7H10
	Ethambutol (5)	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 10 mg EMB dalam 20 ml aquades steril (lar A) – 500 $\mu\text{g/ml}$ 	Tambahkan 5 ml lar A hingga volume akhir 500 ml media 7H10
Obat lini kedua	Levofloxacin (1)	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 10 mg LFX dalam 10 ml 0,1 M NaOH steril – 1.000 $\mu\text{g/ml}$ (lar A) Dilusikan 1 ml lar A hingga volume akhir 10 ml aquades steril – 100 $\mu\text{g/ml}$ (lar B) 	Tambahkan 5 ml lar B hingga volume akhir 500 ml media 7H10
	Moksifloxacin (0,5) <i>Critical concentration</i>	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 10 mg MFX dalam 20 ml 0,1 M NaOH steril – 500 $\mu\text{g/ml}$ (lar A) Dilusikan 1 ml lar A hingga volume akhir 10 ml aquades steril – 50 $\mu\text{g/ml}$ (lar B) 	Tambahkan 5 ml lar B hingga volume akhir 500 ml media 7H10

	Moksifloxacin (2) <i>Clinical breakpoint</i>	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 10 mg MFX dalam 5 ml 0,1 M NaOH steril – 2.000 µg/ml (lar A) Dilusikan 1 ml lar A hingga volume akhir 10 ml aquades steril – 200 µg/ml (lar B) 	Tambahkan 5 ml lar B hingga volume akhir 500 ml media 7H10
	Linezolid (1)	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 10 mg LZD dalam 10 ml DMSO steril (lar A) – 1.000 µg/ml. Dilusikan 1 ml lar A hingga volume akhir 10 ml aquades steril – 100 µg/ml (lar B) 	Tambahkan 5 ml lar B hingga volume akhir 500 ml media 7H10
	Amikacin (2)	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 10 mg AMK dalam 5 ml aquades steril – 2.000 µg/ml (lar A) Dilusikan 1 ml lar A hingga volume akhir 10 ml aquades steril– 200 µg/ml (lar B) 	Tambahkan 5 ml lar B hingga volume akhir 500 ml media 7H10

Tabel 17. Konsentrasi dan larutan yang diperlukan untuk preparasi OAT lini satu dan dua pada 500 ml media 7H11 agar

Jenis	Konsentrasi akhir obat anti TBC (µg/ml)	Stock solution dan pelarut	Dilusi sampai ke media 7H11
Obat lini pertama	Isoniazid (0,2)	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 20 mg INH pada 40 ml aquades steril – 500 µg/ml (lar A) Dilusikan 2 ml lar A hingga volume akhir 50 ml aquades steril – 20 µg/ml (lar B) 	Tambahkan 5 ml lar B ke 500 ml media 7H11
	Rifampicin (1)*	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 10 mg/potensi dalam 5 ml methanol absolut (DMSO)– 2.000 µg/ml Dilusikan 1 ml lar A hingga volume akhir 20 ml etanol 95% - 100 µg/ml (lar B) (sterilkan sendiri) 	Tambahkan 5 ml lar B ke 500 ml media 7H11
	Ethambutol (7,5)	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 15 mg EMB dalam 20 ml aquades steril (lar A) – 750 µg/ml 	Tambahkan 5 ml lar A ke 500 ml media 7H11
Obat lini kedua	Moxifloxacin (0,5) <i>Critical concentration</i>	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 10 mg MFX dalam 20 ml 0,1 M NaOH steril – 500 µg/ml (lar A) Dilusikan 1 ml lar A dengan aquades steril 	Tambahkan 5 ml lar B ke 500 ml media 7H11

		sampai volume akhir 10 ml – 50 µg/ml (lar B)	
	Bedaquiline (0,25)	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 12 mg garam BDQ fumarate (ekuivalen dengan 10 mg BDQ base) dalam 20 ml DMSO – 500 µg/ml (lar A) Dilusikan 1 ml lar A dengan DMSO sampai volume akhir 20 ml – 25 µg/ml (lar B) 	Tambahkan 5 ml lar B ke 500 ml media 7H11
	Linezolid (1)	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 10 mg LZD dalam 10 ml DMSO steril (lar A) – 1.000 µg/ml. Dilusikan 1 ml lar A dengan aquades steril hingga volume akhir 10 ml – 100 µg/ml (lar B) 	Tambahkan 5 ml lar B ke 500 ml media 7H11
	Delamanid (0,016)	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 10 mg DLM dalam 2,5 ml DMSO steril – 4.000 µg/ml (lar A) Dilusikan 0,5 ml lar A dengan DMSO steril sampai volume akhir 12,5 ml – 160 µg/ml (lar B) Dilusikan 1 lar B dengan DMSO steril sampai volume akhir 10 ml – 16 µg/ml (lar C) Dilusikan 1 lar C dengan DMSO steril sampai volume akhir 10 ml – 1,6 µg/ml (lar D) 	Tambahkan 5 ml lar D ke 500 ml media 7H11

*Data tentang perubahan konsentrasi obat RIF pada media 7H11 masih terbatas sehingga masih diperlukan penelitian lebih lanjut. Fakta tentang perubahan konsentrasi RIF pada media 7H10 dari 1 menjadi 0,5 µg/ml, menunjukkan bahwa konsentrasi RIF pada media 7H11 sebesar 1 µg/ml mungkin terlalu tinggi.

d) Pembuatan suspensi bakteri

Isolat primer *fresh* atau baru lebih direkomendasikan karena karakteristik populasi dapat berubah setelah subkultur, terutama pengulangan subkultur. Kultur yang baru tumbuh digunakan untuk pembuatan inokulum dan harus diuji kemurniannya dengan pengecatan BTA serta inokulasi pada media agar darah atau BHI agar dengan melihat pertumbuhan koloni setelah inkubasi 48 jam pada suhu 37°C. Usia koloni yang dianjurkan adalah 1-2 minggu setelah tampak pertumbuhan. Jika lebih dari 2 minggu, maka perlu dilakukan subkultur dan ambil koloni *fresh* dari hasil subkultur. Kekeruhan suspensi harus sama dengan 1 McFarland. 1 ml suspensi diinokulasikan pada media tanpa obat dengan dilusi 10⁻² atau 10⁻⁴ atau keduanya dengan hasil berupa pertumbuhan koloni yang dapat dihitung dan terpisah.

Prosedur pembuatan suspensi dari media padat

- Kerok koloni dari media padat dan jangan sampai mengerok media karena akan mempengaruhi kekeruhan dan memberikan hasil yang salah.
- Pindah koloni ke tabung berlabel yang mengandung 5-6 ml media cair 7H9, suplemen ADC (albumin-dextrose-catalase), Tween 80 0,05% dan *glass bead* 3 mm (jumlah 6-10 biji). Catatan: homogenisasi sebaiknya dengan volume sedikit dulu yaitu 0,5-1 ml sehingga bisa meminimalkan gumpalan.
- Homogenkan dengan vortex selama 1 menit.
- Diamkan selama 30 menit supaya gumpalan besar mengendap.
- Ambil 1-2 ml bagian atas dari suspensi dan pindahkan ke tabung steril. Jangan sampai menyentuh endapan.
- Sesuaikan kekeruhan dengan standar 1 McFarland.

Prosedur pembuatan suspensi dari media cair

- Media Middlebrook 7H9 dapat digunakan. Untuk subkultur Media Middlebrook 7H9 dapat digunakan. Untuk subkultur biasanya media tersebut ditambahkan dengan ADC dan tween 80 (0,05%).
- Ambil 5 ml kultur yang tumbuh dari media cair (*fresh*) dan pindah ke tabung berlabel yang mengandung *glass bead* 3 mm (6-10 biji). Tutup tabung. Catatan: homogenisasi sebaiknya dengan volume sedikit dulu yaitu 0,5-1 ml sehingga bisa meminimalkan gumpalan.
- Homogenkan dengan vortex selama 1 menit.
- Diamkan selama 30 menit supaya gumpalan besar mengendap.
- Ambil 1-2 ml bagian atas dari suspensi dan pindahkan ke tabung steril. Jangan sampai menyentuh endapan.
- Sesuaikan kekeruhan dengan standar 1 McFarland.

Uji kepekaan dilakukan duplo



Inokulasi dari 10^{-2} - 100 μ l ke setiap kuadran
- Setelah dipipet 3 tetes



Inokulasi dari 10^{-4} - 100 μ l ke setiap kuadran
- Setelah dipipet 3 tetes

Gambar 16. Ilustrasi uji kepekaan pada media 7H10 atau 7H11

- e) Dilusi suspensi dan inokulasi pada media
- Buat 2 (dua) dilusi suspensi dengan akuades atau salin steril (10^{-2} dan 10^{-4}) seperti disebutkan pada pembahasan sebelumnya. Penambahan Tween-80 0,01% (konsentrasi akhir media) dapat mengurangi gumpalan.
 - Ambil 0,1 ml suspensi bakteri dan dilusikan dengan 9,9 ml akuades steril dan dihomogenkan. Suspensi merupakan dilusi 10^{-2} .
 - Ambil 0,1 ml dari tabung dilusi 10^{-2} ke kuadran kontrol tanpa obat dan kuadran dengan obat tiap *plate*. Atau bisa juga dengan menggunakan pipet Pasteur plastik atau kaca sebanyak 3 tetes. Hati-hati saat meneteskan supaya tidak menyentuh permukaan agar.
 - Dengan cara sama, inokulasikan 0,1 ml dari tabung dilusi 10^{-4} ke kuadran kontrol tanpa obat dan kuadran dengan obat. Diamkan *plate* pada suhu kamar dengan posisi agar menghadap ke atas sampai cairan diabsorpsi ke dalam agar.
 - Setiap *plate* ditutup dengan parafilm dan dimasukkan ke dalam plastik yang tahan CO_2 .
- f) Inkubasi
- Inkubasi *plate* dengan posisi agar terbalik pada inkubator suhu $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ dan jauhkan dari cahaya (rekomendasi: inkubator CO_2).

g) Pemeriksaan biakan/kultur

- Periksa *plate* setelah 3-7 hari masa inkubasi untuk menemukan kontaminasi. Jika ada kontaminasi, maka uji kepekaan harus diulang.
- Setelah 21 hari inkubasi, periksa setiap kuadran dengan *dissecting microscope*. Isolat yang tumbuh lambat atau jumlah pertumbuhan koloni masih kurang pada media kontrol, maka perpanjang masa inkubasi sampai 28 hari.
- Hitung atau perkirakan jumlah total koloni (termasuk mikro koloni) pada setiap kuadran di kedua dilusi dan catat hasil.
- Catatan: mikrokoloni mewakili benar resistan (contoh, strain bakteri resistan yang tumbuh lambat), resistan parsial (apabila strain dengan MIC yang mendekati konsentrasi yang diuji) atau resistan palsu (kerusakan obat TBC selama masa inkubasi 3-4 minggu). Penyimpanan media terlalu lama cenderung menghasilkan banyak mikrokoloni.

Tabel 18. Perhitungan dan pelaporan koloni yang tumbuh pada *plate media 7H10/7H11*

Jumlah koloni	Laporan
0-50	Jumlah sebenarnya
50-100	1+ (gunakan jumlah sebenarnya)
100-200	2+ (gunakan jumlah perkiraan)
200-500	3+
Konfluen	4+

h) Interpretasi dan pelaporan hasil

(1) Periksa pertumbuhan pada media kontrol tanpa obat

- ✓ Jika tumbuh < 50 koloni pada media kontrol (10^{-2}), maka uji kepekaan harus diulang karena inokulum kurang. Hal ini dikarenakan jumlah koloni pada *plate* membentuk distribusi *Poisson* yang merefleksikan jumlah CFU/ml pada dilusi. Isolat akan tampak sensitif palsu karena reliabilitas kurang untuk mendeteksi bakteri resistan dengan proporsi rendah pada sampel dengan jumlah bakteri < 50. Akan tetapi, jika koloni tumbuh di kuadran satu atau lebih pada media obat, maka hasil harus dilaporkan kepada klinisi saat uji kepekaan diulang karena resistan palsu tidak mungkin terjadi karena kesalahan pengambilan sampel.
- ✓ Jika pertumbuhan pada media kontrol yang diinokulasi dengan dilusi 10^{-4} adalah 3-4+, hal ini menunjukkan inokulasi media yang berlebihan. Hati-hati saat interpretasi hasil karena dapat mewakili penampakan koloni yang resistan secara alami pada media obat (terutama pada media yang diinokulasi dengan dilusi 10^{-2}). Adanya sejumlah besar bakteri dapat mengurangi konsentrasi efektif obat anti-TBC melalui

mekanisme penyerapan atau degradasi ke titik dimana bakteri sensitif dapat tumbuh, dan ini dapat mengakibatkan resistan palsu. Kasus seperti ini, uji kepekaan harus diulang dengan inokulum baru dan preparasi harus lebih hati-hati. Di sisi lain, jika tidak ada pertumbuhan pada media dengan obat, maka isolat dianggap sensitif dan hasil dapat dilaporkan.

- ✓ Jika perlu, jumlah koloni pada media kontrol yang diinokulasi dengan dilusi 10^{-4} dapat digunakan untuk menghitung jumlah koloni pada media tanpa obat yang diinokulasi dengan dilusi 10^{-2} .

- (2) Hitung proporsi koloni resistan dalam bentuk persentase mengikuti prosedur di bawah ini:

$$\frac{\text{Jumlah koloni pada media dengan obat}}{\text{Jumlah koloni pada media kontrol tanpa obat}} \times 100$$

- (3) Catatan :

- (a) Perhitungan di atas untuk jumlah koloni pada media kontrol dan media dengan obat yang telah diinokulasi dengan dilusi yang sama.
- (b) Jika dilusi berbeda untuk inokulasi media kontrol dan media obat, maka harus menerapkan faktor dilusi ke dalam perhitungan. Misal, jika ada 80 koloni pada media obat yang diinokulasi dengan dilusi 10^{-2} dan jika ada 75 koloni pada media kontrol yang diinokulasi dengan dilusi 10^{-4} , maka kalikan dengan 100 (perhitungan ini akan memberi jumlah koloni yang diharapkan untuk dilusi 10^{-2}).
- (c) Hasil harus diinterpretasi sebagai resistan jika proporsi pertumbuhan pada media obat terhadap pertumbuhan pada media kontrol adalah 1% atau lebih besar. Jika resistansi kurang dari 1%, maka strain organisme dianggap sensitif. Hasil harus dilaporkan sebagai resistan atau sensitif. Laporan dapat mencakup proporsi koloni yang resistan.
- (d) Peringatan: Tutup harus melindungi *plate* dan *plate* harus disegel dalam kantong permeabel CO_2 . Pastikan tidak ada kondensat air karena dapat bocor melalui kantong plastik dan menjadi bahaya infeksius.

b. Media Cair: *Mycobacterium Growth Indicator Tube* (MGIT)

Prinsip dasar

Uji kepekaan pada sistem MGIT 960 mempunyai prinsip sama dengan biakan sputum (deteksi pertumbuhan). Tabung MGIT berisi fluorochrome yang dipadamkan dengan oksigen yaitu tris (4,7-difenil- 1,10-fenonthroline) ruthenium chloride pentahydrate yang tertanam dalam silikon di bagian bawah tabung. Jika ada pertumbuhan bakteri di dalam tabung, O₂ bebas akan digunakan dan digantikan oleh CO₂. Penipisan O₂ bebas menyebabkan sensor berfluoresensi di dalam tabung MGIT saat divisualisasikan di bawah sinar ultraviolet. Intensitas fluoresensi berbanding lurus dengan tingkat penipisan O₂. Instrumen BACTEC MGIT 960 secara otomatis mendeteksi fluoresensi ini.

Uji kepekaan dilakukan dengan set AST (uji kepekaan antibiotik), terdiri dari tabung GC (*Growth Control*), satu tabung untuk setiap obat, dan *carrier* tabung dengan *barcode*. Konsentrasi obat yang diketahui ditambahkan pada tabung MGIT bersama dengan spesimen. Jika ada pertumbuhan, maka tabung dengan obat akan dibandingkan dengan tabung kontrol tanpa obat dari spesimen yang sama. Obat yang aktif terhadap isolat mikobakteri (obat masih sensitif), pertumbuhan akan terhambat dan fluoresensi akan ditekan dalam tabung dengan obat. Sedangkan, kontrol tanpa obat akan tumbuh dan menunjukkan peningkatan fluoresensi. Akan tetapi, jika isolat resistan, maka pertumbuhan akan terlihat dan terjadi peningkatan fluoresensi pada tabung dengan dan tanpa obat. Pertumbuhan selalu dipantau oleh instrumen MGIT 960 dan dicatat sebagai *Growth Unit* (GU).

Sistem MGIT ini dapat digunakan untuk uji kepekaan baik OAT lini pertama maupun kedua dengan prinsip sama dan metode proporsi. Penilaian kriteria 1% yaitu inokulum kontrol didilusikan 100 kali lipat dibandingkan dengan inokulum tabung yang berisi obat anti TBC. Pertumbuhan dalam tabung obat dibandingkan jika pertumbuhan dalam tabung kontrol mencapai ambang batas yang telah ditentukan dan dinyatakan dalam GU. Protokol uji kepekaan BACTEC MGIT 960 biasanya membutuhkan waktu 4-13 hari untuk obat lini pertama dan kedua. Beberapa kasus membutuhkan perpanjangan masa inkubasi untuk beberapa strain resistan terhadap obat yang mungkin membutuhkan waktu lebih dari 14 hari untuk tumbuh. PZA menggunakan protokol 21 hari dan kontrol pertumbuhan 1:10 (GC).

1) Uji Kepekaan Obat Anti Tuberkulosis Lini Pertama

BACTEC MGIT 960 dapat melakukan uji kepekaan terhadap OAT lini pertama antara lain Streptomycin (S), Isoniazid (INH), Rifampicin (R) dan Ethambutol (E), yang disingkat SIRE. Uji ini merupakan prosedur kualitatif dan cepat untuk menentukan kepekaan *M. tbc* terhadap keempat antibiotik dengan konsentrasi kritis. Sebagai tambahan, uji dengan konsentrasi obat lebih tinggi untuk S, INH dan E juga tersedia dalam kasus yang terindikasi terhadap konsentrasi lebih tinggi.

Reagen

Kit BACTEC MGIT 960 SIRE untuk konsentrasi kritis mengandung antibiotik berikut dalam bentuk terliofilisasi. Setiap perangkat mengandung masing-masing satu vial S, INH, R, dan E dan 8 vial suplemen MGIT 960 SIRE.

Reagen

Kit BACTEC MGIT 960 SIRE untuk konsentrasi kritis mengandung antibiotik berikut dalam bentuk terliofilisasi. Setiap perangkat mengandung masing-masing satu vial S, INH, R, dan E dan 8 vial suplemen MGIT 960 SIRE.

a) Antibiotik

- Streptomisin – antibiotik terliofilisasi rerata per vial 332 µg
- INH – antibiotik terliofilisasi rerata per vial 33,2 µg
- Rifampin – antibiotik terliofilisasi rerata per vial 332 µg
- Ethambutol – antibiotik terliofilisasi rerata per vial 1.660 µg

b) Suplemen SIRE

Vial suplemen SIRE berbeda dari suplemen pertumbuhan MGIT dan setiap liter dari air yang telah dimurnikan mengandung:

- Albumin sapi 50 g
- Dekstrosa 20 g
- Katalase 0,03 g
- Asam oleat 0,6 g

c) Penyimpanan

Saat diterima, simpan antibiotik yang telah terliofilisasi pada suhu 2-8°C. Larutkan terlebih dahulu saat akan digunakan. Segera setelah dibuka dan dilarutkan, larutan antibiotik yang tersisa disimpan dalam tempat dengan jumlah kecil (alikuot) dan dibekukan pada suhu -20°C atau lebih rendah, yang dapat disimpan sampai 6 bulan atau sampai tanggal kadaluwarsa. Prioritaskan yang datang lebih dahulu untuk dikeluarkan. Setelah dicairkan kembali, buang sisanya dan jangan disimpan atau dibekukan kembali.

Prosedur yang dilakukan adalah sebagai berikut:

(1) Pelarutan antibiotik terliofilisasi

Larutkan setiap vial antibiotik konsentrasi kritis dengan 4 ml air steril yang telah didistilasi/deionisasi, kecuali vial RIF dilarutkan dengan 8 ml air steril. Campur dan pastikan antibiotik tersebut larut secara keseluruhan.

(2) Penambahan antibiotik ke dalam media

Tambahkan 0.1 ml (100 µL) dari campuran larutan antibiotik tersebut ke dalam setiap tabung BACTEC MGIT 960 berlabel. Ini akan menghasilkan konsentrasi kritis dari masing-masing antibiotik di setiap media.

(3) Persiapan inokulum

Inokulum dari tabung MGIT Positif:

- Hari saat tabung MGIT dinyatakan positif dianggap sebagai hari 0.
- Tabung harus tetap diinkubasi sampai paling tidak 1 hari lagi (hari 1) sebelum digunakan untuk uji kepekaan (dapat diinkubasi di inkubator terpisah suhu $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$).
- Tabung positif dapat digunakan untuk uji kepekaan antibiotik sampai hari kelima tabung itu dinyatakan positif (hari 5). Tabung yang dinyatakan positif lebih dari 5 hari harus disubbiakan di tabung MGIT baru dengan suplemen pertumbuhan dan dimasukkan ke instrumen MGIT 960 sampai positif. Gunakan tabung ini pada hari pertama sampai kelima seperti yang disebutkan di atas.
- Jika biakan tumbuh pada hari 1 atau 2, kocok baik dengan *vortex* untuk memecah gumpalan. Biarkan tabung selama 5-10 menit agar gumpalan besar mengendap di dasar. Ambil supernatan secara hati-hati dengan pipet transfer steril yang ditempatkan tepat di bawah permukaan cairan dalam wadah steril bersih. Cairan tidak perlu didilusikan untuk diinokulasikan pada tabung media dengan obat.
- Jika biakan tumbuh di tabung pada hari 3, 4, atau 5, kocok baik dengan *vortex* untuk memecah gumpalan. Biarkan tabung selama 5-10 menit agar gumpalan besar mengendap di dasar. Ambil supernatan sebanyak 1 ml secara hati-hati dengan pipet transfer steril yang ditempatkan tepat di bawah permukaan cairan dalam wadah steril bersih dan dilusikan dengan 4 ml larutan salin steril. Dilusi yang digunakan adalah 1:5. Gunakan larutan campuran biakan yang didilusikan ini untuk diinokulasikan pada tabung media dengan obat.

Inokulasi dari pertumbuhan (biakan) media padat

- Siapkan 4 ml salin steril (NaCl 0,85%) pada tabung steril bersih (kapasitas volume 15 ml) dan diisi *glass bead* (ukuran 2-3 mm) sebanyak 8-10 biji.
- Gunakan biakan dari media padat dengan usia koloni tidak > 15 hari sejak terlihat biakan positif. Kerok koloni sebanyak mungkin dengan sendok/spatula steril dari stik aplikator kayu. Jangan sampai media agar terangkat saat pengerokan.
- Pindah koloni ke tabung berisi salin steril dan *glass bead*. Kencangkan tutup dan kocok tabung dengan *vortex* selama 1-2

menit untuk memecah gumpalan. Kekeuhan suspensi harus > 1 standar McFarland.

- Biarkan suspensi mengendap selama 20 menit.
- Pindah cairan di atas lapisan sedimen dari suspensi dengan pipet ke tabung steril lain secara hati-hati. Hindari pengambilan koloni yang telah mengendap di dasar.
- Biarkan tabung selama 15 menit.
- Pindah cairan di atas lapisan sedimen dari suspensi dengan pipet ke tabung steril lain secara hati-hati, tanpa mengganggu sedimen yang terbentuk. Kekeuhan suspensi harus > 0.5 standar McFarland.
- Atur kekeuhan suspensi sampai 0.5 McFarland dengan menambahkan cairan salin steril dan diatur sesuai dengan perbandingan visual. Jangan membuat di bawah standar.
- Larutkan suspensi 1:5 dengan menambahkan 1 ml suspensi ke dalam 4 ml cairan saline steril. Kocok dengan baik dan gunakan sebagai inokulum untuk uji kepekaan.

(4) Inokulasi dan Inkubasi

- *growth control* tanpa antibiotik), satu untuk STR, satu untuk INH, satu untuk RIF, dan satu untuk EMB.
- Tambahkan 0.8 ml suplemen BACTEC 960 SIRE secara aseptik pada setiap tabung MGIT. Gunakan hanya suplemen MGIT SIRE dan bukan suplemen pertumbuhan MGIT.
- Tambahkan 0.1 ml (100 mikroliter) larutan antibiotik STR pada tabung berlabel STR secara aseptik.
- Tambahkan antibiotik lain pada tabung berlabel lain dengan cara yang sama. Perlu diingat, tambahkan jumlah antibiotik yang sesuai untuk setiap tabung. Jika memungkinkan, gunakan mikropipet yang telah dikalibrasi dengan baik. Gunakan pipet atau ujung mikropipet berbeda untuk setiap antibiotik.
- Jangan tambahkan antibiotik apapun pada tabung GC.

Tabel 19. Rekonstitusi volume dan konsentrasi akhir obat TBC lini pertama.

Antibiotik	Konsentrasi Antibiotik setelah Pencampuran*	Volume yang ditambahkan ke tabung MGIT	Konsentrasi akhir tabung MGIT
Streptomycin	83 µl/ml	100 ml	1 µl/ml
Isoniazid	8,3 µl/ml	100 ml	0,1 µl/ml
Rifampicin	41,5 µl/ml	100 ml	0,5 µl/ml
Ethambutol	415 µl/ml	100 ml	5 µl/ml

*Antibiotik harus dilarutkan dengan 4 ml air deionisasi atau distilasi untuk mencapai konsentrasi yang diperlukan.

- Tambahkan 0,5 ml inokulum secara aseptik ke setiap tabung yang mengandung antibiotik dengan pipet. Jangan tambahkan ke tabung GC.
- Untuk kontrol pada tabung GC, larutkan inokulum 1:100 dengan menambahkan 0,1 ml inokulum sampai volume akhir 10 ml salin steril. Kocok dengan membalik-balikkan tabung sebanyak 5-6 kali. Ambil 0,5 ml larutan suspensi ini untuk ditambahkan ke dalam tabung GC.
- Kencangkan tutup dan campur dengan membalik-balikkan tabung beberapa kali.
- Uji kepekaan disediakan dengan beberapa macam kombinasi antibiotik. Uji SIRE rutin dengan konsentrasi kritis menggunakan *carrier set* lima tabung (petunjuk penggunaan BACTEC MGIT 960). Tempatkan tabung yang sudah dilabel sesuai dengan urutan (GC, S, I, R, E).
- Pindai *barcode* pada *carrier set* dan masukkan ke mesin BACTEC MGIT 960 dengan fitur *entry* uji kepekaan (petunjuk penggunaan BACTEC MGIT 960, instruksi untuk AST). Pastikan urutan tabung pada uji kepekaan sesuai dengan urutan pada pengaturan asal. Misal. Urutan GC, S, I, R, dan E untuk pengujian standar SIRE.
- Pastikan bahwa inokulum murni dengan membuat sediaan BTA dan meneteskan atau menggoreskan inokulum ke media agar darah. Jika media agar darah tidak tersedia, gunakan media agar BHI. Inkubasi pada suhu $35^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ selama 48 jam dan periksa apakah ada pertumbuhan. Jika ada pertumbuhan, jangan lanjutkan uji kepekaan.

Catatan :

- Uji kemurnian biakan perlu dilakukan sebelum menyiapkan uji kepekaan, terutama jika dicurigai ada kontaminasi. Isolat biakan yang tidak murni akan menyebabkan *error X* atau resistan palsu.
- Gunakan biakan *fresh* atau koloni usia muda. Koloni usia tua akan menurunkan viabilitas dan memberikan hasil sensitif palsu atau *error* lain.
- Suspensi inokulum harus benar-benar homogen. Inokulum dengan gumpalan besar dapat memberikan hasil *error*.
- Inokulum berlebih akan memberikan hasil resistan palsu atau *error X400*, sedangkan inokulum kurang juga akan memberikan hasil sensitif palsu atau *error X200*.

(5) Interpretasi Hasil

- Instrumen akan memonitor tabung uji kepekaan yang dimasukkan. Jika uji selesai dalam 4-13 hari, instrumen akan memberi tanda bahwa hasil sudah siap. Pindah *set carrier* tersebut dan cetak hasil laporan. Hasil yang tercetak akan menunjukkan kepekaan untuk setiap antibiotik. Hasil berupa kualitatif: *susceptible/sensitif* (S), resistan (R), atau *error* (X).

- Instrumen akan menginterpretasi hasil saat *Growth Unit* (GU) pada tabung GC mencapai 400 GU dalam waktu 4-13 hari. Nilai GU dari antibiotik tersebut dievaluasi pada titik ini.
 - S = *Susceptible*/sensitif – GU antibiotik < 100.
 - R = Resistan – GU antibiotik ≥ 100.
 - X = *Error* – hasil tidak dapat ditentukan.
 Ada suatu kondisi yang mungkin mempengaruhi hasil tes, misal GU ≥400 dalam waktu < 4 hari. Pada situasi tersebut, uji kepekaan perlu diulang dengan biakan murni, yang dipastikan merupakan *M. tuberculosis*. Pertumbuhan bakteri *strain* resistan terhadap antibiotik tertentu sangat lambat dan hasil tidak dapat dibaca dalam waktu 13 hari dengan inokulum standar. Pada kasus demikian, inokulum dapat ditingkatkan dengan mengurangi dilusi larutan suspensi biakan untuk mendapat hasil yang lebih dapat dibaca.

(6) Pelaporan Hasil

Hasil harus dapat dilaporkan sesegera mungkin. Saat pelaporan hasil, laboratorium perlu menyertakan metode yang digunakan dan jenis antibiotik beserta konsentrasinya. Jika ada kasus dengan hasil resistan, maka periksa kembali media secara visual dan pastikan biakan tidak terkontaminasi (lihat kekeruhan dan inokulasikan biakan pada media agar darah). Hasil resistan juga bisa disebabkan oleh NTM jika terjadi biakan tidak murni atau terkontaminasi. Jika ada hasil *error*, atau resistan terhadap salah satu rifampicin, PZA atau ethambutol, maka ulangi uji kepekaan untuk memastikan resistansinya.

(7) Quality Control (QC)

QC uji kepekaan antibiotik wajib dilakukan secara periodik. Syarat minimal QC adalah setiap penggunaan reagen baru, mis QC antibiotik SIRE atau media MGIT. Jika hasil QC gagal, maka semua hasil yang dikerjakan pada siklus tersebut termasuk reagen perlu dikaji dan uji sebaiknya diulang. QC menggunakan *strain M. tuberculosis* H37Rv (ATCC - *American Type Culture Collection* - nomor 27294) yang susceptible atau sensitif terhadap segala jenis antibiotik anti-TBC. Penggunaan kontrol *strain* resistan mungkin bermanfaat karena memungkinkan untuk deteksi kesalahan dalam persiapan *stock solution*.

2) Uji Kepekaan Pyrazinamide (PZA)

Uji kepekaan PZA dilakukan pada media dengan pH yang telah disesuaikan, karena obat PZA hanya akan aktif di suasana pH rendah secara *in vitro*. Uji secara fenotipik berbasis kultur sulit dilakukan dan dapat memberikan hasil yang tidak reliabel. Hasil uji kepekaan PZA dapat menginformasikan keputusan tentang pilihan dan desain rejimen TBC-RO yang efektif. Saat ini, metode kultur cair BACTEC MGIT 960 adalah satu-satunya metode yang direkomendasikan oleh WHO untuk uji kepekaan

PZA, meskipun laporan hasil resistan palsu PZA masih tinggi di beberapa laboratorium. Laboratorium dengan kualitas baik menunjukkan bahwa hasil uji kepekaan PZA dengan MGIT dapat dilakukan dengan reliabel dan reproduksibel. Deteksi resistansi dengan melihat mutasi gen *pncA* oleh sekuensing DNA merupakan metode yang paling andal untuk mendeteksi resistansi PZA, meskipun masih ada bukti tentang resistansi mutasi *non-pncA*.

Uji kepekaan BACTEC MGIT 960 PZA adalah prosedur kualitatif untuk menguji kepekaan *M. tuberculosis* terhadap PZA. Hasil dapat diperoleh dalam waktu 4-21 hari. Media MGIT 960 mengandung 7H9 broth yang telah dimodifikasi dengan penyesuaian pH menjadi 5.9. Deteksi pertumbuhan dilakukan dengan sensor oksigen di dasar tabung sama seperti tabung MGIT dan prinsip deteksi kepekaan sama dengan uji kepekaan antibiotik SIRE.

Reagen

Tabung media BACTEC MGIT 960 PZA mengandung 7 ml cairan kaldu. Kaldu tersebut berisi 5.9 g kaldu Middlebrook 7H9 yang telah dimodifikasi dan 1.25 pepton kasein per liter air murni dan pH telah disesuaikan menjadi 5.9.

Kit BACTEC MGIT PZA terdiri dari dua vial 20.000 µg PZA terliofilisasi dan 6 vial suplemen PZA. Setiap suplemen vial mengandung 15 ml pengaya dengan formula per liter air sebagai berikut:

Albumin sapi	50	g
Dekstrosa	20	g
Polioksietilin stat (POES)	1,1	g
Katalase	0,03	g
Asam oleat	0,1	g

Instruksi penyimpanan:

- Media PZA dapat disimpan pada suhu 2-25 °C. Jangan dibekukan, hindari paparan terhadap cahaya dan jangan gunakan jika keruh.
- Saat diterima, vial antibiotik PZA harus disimpan pada suhu 2-8 °C. Setelah dilarutkan, larutan antibiotik dapat dibekukan pada suhu -20 °C atau lebih dingin sampai 6 bulan, tetapi tidak boleh melebihi tanggal kadaluwarsa. Sekali dicairkan, jangan simpan atau dibekukan kembali.
- Suplemen PZA harus disimpan pada suhu 2-8 °C segera saat diterima. Hindari beku atau panas dan gunakan sebelum tanggal kadaluwarsa. Minimalisir paparan terhadap cahaya.

Prosedur

(1) Pelarutan antibiotik PZA terliofilisasi

Larutkan setiap vial antibiotik PZA dengan 2,5 ml air distilasi atau deionisasi steril. Kocok dengan baik. Larutan antibiotik ini mengandung PZA 8.000 µg/ml.

(2) Persiapan inokulum

Uji kepekaan PZA direkomendasikan untuk biakan murni *M. tbc*. Biakan yang diuji harus dipastikan tidak terkontaminasi dan teridentifikasi jelas sebagai *M. tbc*.

Persiapan dari tabung MGIT positif:

Gunakan tabung MGIT positif yang *fresh* seperti yang dideskripsikan di bagian uji kepekaan SIRE.

- Hari 0 adalah hari tabung MGIT dinyatakan positif oleh instrumen. Inkubasi kembali.
- Hari 1 atau 2 adalah hari pertama atau kedua setelah instrumen positif. Gunakan untuk inokulasi uji kepekaan tanpa diencerkan.
- Hari 3, 4 atau 5 – kocok rata dan dilusi 1:5 dengan menambahkan 1 ml kaldu positif dalam 4 ml cairan *saline* steril. Kocok rata. Gunakan ini untuk inokulasi uji kepekaan.
- Hari 6 dan seterusnya – sub kultur di tabung MGIT baru dan ikuti petunjuk di atas.

Peringatan:

Hindari gumpalan mikobakteri dengan mengocok rata (homogenisasi dengan *Vortex*) dan biarkan 15 – 20 menit. Ambil kaldu pada cairan yang berada di lapisan atas sedimen untuk persiapan inokulasi.

Persiapan dari pertumbuhan di media padat:

Ikuti prosedur yang sama dengan uji kepekaan SIRE.

- Ambil kerakan koloni sebanyak mungkin dari media padat dengan stik steril atau stik kayu.
- Pindahkan ke tabung steril yang mengandung 4-5 ml kaldu 7H9 steril dengan 8-10 *glass bead*.
- Kencangkan tutup ulir dan homogenkan kaldu dengan *Vortex* selama 1-2 menit. Diamkan selama 20 menit.
- Ambil hati-hati cairan yang berada di atas lapisan sedimen dan pindahkan ke tabung steril baru. Homogenkan lagi dengan *Vortex* dan biarkan diamkan selama 15 menit.
- Ambil lagi cairan di atas lapisan sedimen ke tabung steril ketiga. Atur kekeruhan suspensi menjadi standar 0,5 McFarland dengan menambahkan cairan *salin* steril secara bertahap.
- Untuk inokulasi uji kepekaan, dilusikan suspensi menjadi 1:5 dengan menambahkan 1 ml suspensi ke 4 ml cairan *salin* steril. Gunakan larutan suspensi ini untuk uji kepekaan.

(3) Inokulasi dan inkubasi

- Beri label pada kedua tabung MGIT PZA, satu sebagai *growth control* (GC) dan satu sebagai PZA (mengandung antibiotik). Pipet secara aseptik 0,8 ml suplemen PZA ke setiap tabung.
- Tambahkan 0,1 ml (100 μ L) secara aseptik dari campuran ke tabung PZA. Gunakan mikropipet jika memungkinkan. Usahakan seakurat mungkin saat menambah antibiotik. Campuran tersebut akan menghasilkan 100 μ g PZA per ml media. Jangan tambahkan antibiotik ke tabung GC.
- Inokulasikan 0,5 ml dari suspensi biakan ke tabung PZA dengan pipet steril. Untuk inokulasi GC, larutkan inokulum menjadi 1:10 dengan menambahkan 0,5 ml suspensi biakan (yang digunakan untuk tabung antibiotik) ke 4,5 ml salin steril. Kocok dengan tutup rapat dan membolak-balik 5-6 kali. Tambahkan 0,5 ml suspensi larutan ini ke tabung GC.
- Kencangkan tutup dan bolak-balik tabung MGIT beberapa kali agar tercampur rata.
- Letakkan tabung-tabung tersebut di *set carrier* yang berisi dua tabung dengan urutan GC lalu PZA.
- Masukkan *set carrier* PZA ke dalam instrumen.

Catatan

- Uji kepekaan hanya menggunakan suplemen dan media PZA.
- Inokulum kontrol uji kepekaan PZA adalah dilusi 1:10, bukan 1:100 seperti SIRE AST.
- Pastikan tabung untuk set AST diletakkan pada posisi yang sesuai (yaitu GC, PZA).
- Periksa kemurnian inokulum dengan melakukan *streaking* suspensi biakan ke media agar darah. Jika media tidak ada, gunakan agar coklat atau BHI. Inkubasi dan cek pertumbuhan setelah 48 jam. Jika ada pertumbuhan di media agar, hentikan uji kepekaan dan jangan gunakan hasil tersebut. Ulangi pengujian setelah mendapat biakan murni.

(4) Interpretasi Hasil

Instrumen BACTEC 960 akan memonitor media inokulasi dan memberikan hasil dalam 4-21 hari (GC mencapai GU \geq 400). Pada titik ini, *set carrier* uji kepekaan dapat dikeluarkan setelah dipindai dan laporan dapat dicetak. Laporan hasil akan berupa “S” (*susceptible*/sensitif) atau “R” (resistan). Jika tabung GC menjadi positif dalam waktu kurang dari 4 hari atau tetap negatif dalam waktu 21 hari, atau jika ada kondisi tertentu yang mempengaruhi hasil uji, maka instrumen akan melaporkan sebagai *error* (“X”). Jika hal tersebut terjadi, maka pengujian perlu diulang. Interpretasi hasil oleh instrumen akan didasarkan pada nilai GU seperti yang dideskripsikan untuk antibiotik SIRE.

(5) Pelaporan Hasil

Hasil pengujian dilaporkan sebagai *susceptible*/sensitif atau resistan. Pelaporan disertai dengan informasi metode dan konsentrasi antibiotik yang digunakan. Jika hasil menunjukkan resistan hanya terhadap PZA (mono resistan) pada isolat klinis, maka hal ini tidak umum dan pengujian sebaiknya diulang. Hasil uji kepekaan dilaporkan jika sudah benar terkonfirmasi. Biakan terkontaminasi atau terkonfirmasi NTM, atau biakan tidak murni karena tercampur antara *M. tbc* dan mikobakteria lain, maka hasil uji kepekaan terhadap PZA akan salah. *Strain M. bovis*, termasuk *M. bovis* BCG, secara alami menunjukkan resistan terhadap PZA.

(6) Kontrol Kualitas/Control Quality (QC)

QC dilakukan secara periodik untuk memeriksa kualitas uji kepekaan PZA. Syarat minimal adalah pemeriksaan setiap reagen baru, seperti antibiotik PZA atau media MGIT PZA. Jika uji QC terbukti gagal, maka semua hasil yang diperoleh dari *batch* produk tersebut seharusnya dikaji kembali dan pengujian sebaiknya diulang. Gunakan *strain M. tuberculosis* H37Rv (ATCC - American Type Culture Collection - nomor 27294) yang *susceptible*/peka terhadap semua jenis OAT.

3) Uji kepekaan Obat Anti Tuberkulosis (OAT) Lini 2

Pengobatan TBC-MDR menjadi lebih individual sebagai hasil inovasi dalam diagnostik dan pemahaman ilmiah yang berkembang atas dasar mekanisme molekuler resistansi obat, farmakokinetik dan farmakodinamik obat TBC. Tiga kriteria untuk pengobatan TBC dari penilaian bukti ilmiah saat ini antara lain:

- a) Rejimen pengobatan efektif dan sepenuhnya oral untuk sebagian besar pasien;
- b) Pengobatan harus memastikan bahwa bakteri tidak resistan terhadap obat golongan fluoroquinolones sebelum mulai pengobatan pasien, terutama pada pemberian paduan jangka pendek;
- c) Evaluasi ketat terhadap keamanan dan keselamatan pasien selama pengobatan dan ambang batas rendah untuk peralihan rejimen pengobatan pada pasien yang tidak respon atau intoleransi obat.

Tahun 2018 pengobatan TBC-RO telah dibagi menjadi grup A, B, dan C dengan tingkat urutan rekomendasi dari tertinggi sampai terendah. Ada beberapa revisi terhadap konsentrasi obat yang digunakan untuk uji kepekaan. Grup A yang sangat direkomendasikan dalam pengobatan TBC-RO antara lain fluoroquinolon generasi lanjut (levofloxacin dan moxifloxacin), *bedaquiline*, dan *linezolid*. Konsentrasi kritis OAT yang digunakan untuk pengobatan TBC sensitif obat, TBC-RR dan TBC-MDR telah disajikan pada tabel sebelumnya (Tabel 11 dan 12). Reliabilitas dan reproduktifitas pengujian beberapa obat masih tidak pasti sehingga tidak direkomendasikan. Prosedur uji kepekaan OAT lini kedua sama dengan

uji kepekaan OAT lini pertama, sebagaimana dijelaskan pada pembahasan di atas.

Prosedur yang dilakukan adalah

1) Persiapan OAT Yang digunakan

a. Menggunakan obat dalam bentuk liofilisasi

Obat bentuk liofilisasi biasanya telah tersedia dari pabrik dalam jumlah terbatas. Prosedur pelarutan obat harus mengikuti petunjuk pabrikan. Penting untuk memastikan bahwa konsentrasi uji akhir sama dengan yang direkomendasikan oleh WHO. Berikut merupakan obat antibiotik dari pabrik BD (Tabel 20).

Tabel 20. Jenis Antibiotik dari BD

Obat liofilisat	No Katalog BD	No Katalog GDF	µg/vial	Volume yang ditambahkan	Konsentrasi setelah diencerkan	Volume yang ditambahkan ke tabung MGIT	Konsentrasi akhir di tabung MGIT
Moxifloxacin	215404	106585	249	3 ml dilusi 1: 4	83 20,75	100 100	1 µg/ml 0,25 µg/ml
Levofloxacin	TBD	TBD	249	3 ml	83	100	1 µg/ml
<i>Bedaquiline</i>	215406	TBD	170	2 ml	83	100	1 µg/ml
Delamanid	N/A	N/A	-	-	-	-	0,06 µg/ml
Amikacin	215350	106586	332	4ml	83	100	1 µg/ml
Streptomisin	245123	106028	332	4ml	83	100	1 µg/ml
<i>Linezolid</i>	N/A	N/A	-	-	-	-	1 µg/ml
<i>Clofazimine</i>	N/A	N/A	-	-	-	-	

b. Menggunakan obat bubuk murni

Formulasi murni dari obat yang diuji harus digunakan untuk menyiapkan medium. Obat yang akan diuji harus disimpan sesuai dengan instruksi pabrikan. Berat obat dalam bentuk serbuk harus dihitung untuk setiap preparasi berdasarkan potensi (aktivitas) yang disediakan oleh pabrikan.

Tabel 21 memberikan gambaran umum tentang produsen yang menyediakan obat bubuk murni.

Tabel 21. Ketersediaan Antibiotik dari GDF dan pabrikan lain

Obat	Deskripsi dan Komposisi	No katalog pabrik	No katalog GDF	Jumlah	Suhu Penyimpanan
Levofloxacin	>98% HPLC	Sigma-Aldrich (28266-1G)	106560	1 g	2-8 °C
^a Moxifloxacin	Substansi murni	Sigma-Aldrich (32477-50MG)	106314a	50 mg	2-8 °C
<i>Bedaquiline</i>	12 mg BDQ garam fumarat ≈ 10 mg BDQ base	Tersedia gratis dan dapat diakses melalui : https://www.hivreagentprogram.org	Tidak tersedia	40 mg	suhu kamar
<i>Linezolid</i>	Substansi murni Potensi ≥ 98%	Sigma (PZ0014-5MG) Caymen Chemical	Tunda	5 mg 10 mg	2-8 °C
Clofazimine	Substansi murni	Sigma-Aldrich (C8895-1G)	Tunda	1 g	2-8 °C
Delamanid	Substansi murni	Tersedia gratis dan dapat diakses melalui: https://www.beiresources.org	Tidak tersedia	40 mg	suhu kamar
^b Amikacin	Garam amikacin disulfate. Potensi : 674-786 µg per mg (sesuai amikacin base)	Sigma-Aldrich (A1774-250MG)	106318b	250mg	2-8 °C
^c Streptomisin	Streptomisin sulphate. Potensi ≥ 720 µg per mg (sesuai streptomisin base)	Sigma- Aldrich (S6501-5G)	106311c	5 g	2-8 °C

- ^aKatalog GDF 1 gram Moxifloxacin
- ^bKatalog GDF 5 gram Amikacin
- ^cKatalog GDF dihydro-streptomisin

2) OAT Lini Kedua dan Konsentrasi Kritis Untuk Uji Kepekaan

Persiapan pembuatan larutan SS dan WS OAT lini kedua mempunyai prinsip sama dengan OAT lini pertama dengan membuat dilusi sedemikian rupa sehingga bila 0,1 ml (100 µl) ditambahkan ke 7 ml media MGIT, maka konsentrasi uji yang diinginkan tercapai berdasarkan pada jumlah media dalam mililiter. Pedoman persiapan OAT dengan konsentrasi kritis yang direkomendasikan telah ditunjukkan pada Tabel 22.

Tabel 22. Konsentrasi dan larutan untuk persiapan obat lini kedua pada sistem BACTEC MGIT 960

Konsentrasi akhir obat ($\mu\text{g/ml}$)	Larutan stok dan pelarut	Dilusi bertahap dengan aquades steril (DMSO pada clofazimine and bedaquiline)
Levofloxacin (1)	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 10 mg LFX dengan 2,5 ml 0,1 M NaOH^a steril – 4.000 $\mu\text{g/ml}$ (Lar A) Dilusikan 1 mL lar A dengan aquades steril sampai volume akhir 5 mL – 800 $\mu\text{g/ml}$ (Lar B) 	<ul style="list-style-type: none"> Ambil 1,05 mL lar B ke 8,95 mL aquades steril – 84 $\mu\text{g/ml}$ (WS)
Moxifloxacin (0,25) Konsentrasi kritis	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 10 mg MFX dalam 5 mL 0,1 M NaOH^a steril – 2.000 $\mu\text{g/ml}$ (Lar A) Dilusikan 1 mL lar A dengan aquades steril sampai volume akhir 10 mL – 200 $\mu\text{g/ml}$ (Lar B) 	<ul style="list-style-type: none"> Ambil 1,05 mL lar B ke 8,95 mL aquades steril – 21 $\mu\text{g/ml}$ (WS)
Moxifloxacin (1) <i>Clinical breakpoint</i>	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 10 mg MFX dalam 2,5 mL 0,1 M NaOH^a steril – 4.000 $\mu\text{g/ml}$ (lar A) Dilusikan 1 mL lar A dengan aquades steril sampai volume akhir 5 mL – 800 $\mu\text{g/ml}$ (Lar B) 	<ul style="list-style-type: none"> Ambil 1,05 mL lar B ke 8,95 mL aquades steril – 84 $\mu\text{g/ml}$ (WS)
Bedaquiline ^b (1)	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 12 mg garam BDQ fumarate (ekuivalen dengan 10 mg BDQ base) dalam 2,5 mL DMSO – 4.000 $\mu\text{g/ml}$ (Lar A) Dilusikan 1 mL lar A dengan DMSO sampai volume akhir 5 mL – 800 $\mu\text{g/ml}$ (Lar B) 	<ul style="list-style-type: none"> Ambil 1,05 mL lar B ke 8,95 mL DMSO – 84 $\mu\text{g/ml}$ (WS)
Linezolid (1)	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 10 mg LZD dengan 10 mL DMSO – 1.000 $\mu\text{g/ml}$ (Lar A) Dilusikan 1 mL lar A dengan 9 mL aquades steril – 100 $\mu\text{g/ml}$ (Lar B) 	<ul style="list-style-type: none"> Ambil 8,4 mL lar B ke 1,6 mL aquades steril – 84 $\mu\text{g/ml}$ (WS)
Clofazimine ^d (1)	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 10 mg CFZ dengan 10 mL DMSO – 10.000 $\mu\text{g/ml}$ (Lar A) Dilusikan 1 ml lar A dengan 9 mL DMSO – 1.000 $\mu\text{g/ml}$ (Lar B) Dilusikan 1 ml lar B dengan 9 mL DMSO – 1.000 $\mu\text{g/ml}$ (Lar C) 	<ul style="list-style-type: none"> Ambil 8,4 mL lar C ke 1,6 mL DMSO – 84 $\mu\text{g/ml}$ (WS)
Delamanid (0,06)	<ul style="list-style-type: none"> Larutkan 10 mg DLM dengan 1 mL DMSO secara langsung ke dalam vial asli – 10.000 $\mu\text{g/ml}$ (Lar A) Dilusikan 1 ml Lar A dengan 9 mL DMSO – 1.000 $\mu\text{g/ml}$ (Lar B) Dilusikan 1 ml lar A dengan 9 mL DMSO – 100 $\mu\text{g/ml}$ (Lar C) Dilusikan 1 ml lar B dengan 9 mL DMSO – 10 $\mu\text{g/ml}$ (Lar D) 	<ul style="list-style-type: none"> Ambil 5,05 mL lar D ke 9,5 mL DMSO – 5,05 $\mu\text{g/ml}$ (WS)
Amikacin (1)	<ul style="list-style-type: none"> Asumsi potensi 0,71 (bervariasi tergantung pabrikan) Larutkan 140 mg amikacin dalam 10 mL aquades steril - 10,000 $\mu\text{g/ml}$ (Lar A) Dilusikan 1 mL lar A dengan 9 mL aquades steril - 1,000 $\mu\text{g/ml}$ (Lar B) Dilusikan 4 mL lar B dengan aquades steril sampai volume akhir 5 mL - 800 $\mu\text{g/ml}$ (lar C) 	<ul style="list-style-type: none"> Ambil 1,05 mL lar C ke 8,95 mL aquades steril – 84 $\mu\text{g/ml}$ (WS)
Streptomisin (1)	<ul style="list-style-type: none"> Asumsi potensi 0,71 (bervariasi tergantung pabrikan) Larutkan 140 mg amikacin dalam 10 mL aquades steril – 10.000 $\mu\text{g/ml}$ (Lar A) Dilusikan 1 mL lar A dengan 9 mL aquades steril – 1.000 $\mu\text{g/ml}$ (Lar B) Dilusikan 4 mL lar B dengan aquades steril sampai volume akhir 5 mL - 800 $\mu\text{g/ml}$ (lar C) 	<ul style="list-style-type: none"> Ambil 1,05 mL lar C ke 8,95 mL aquades steril – 84 $\mu\text{g/ml}$ (WS)

Catatan :

^aNaOH, sodium hidroksida 1M NaOH: larutkan 40 g NaOH dalam 1 liter air distilasi atau deionisasi water (atau larutkan 4 g dalam 100 ml; dilusi 1:10 untuk mencapai 0,1 M.

^b*Bedaquiline* harus menggunakan material dari polystyrene atau kaca baik untuk preparasi ss dan *ws*, maupun *plate* / tabung yang digunakan.

^cGunakan DMSO sebagai pelarut clofazimine, delamanid dan *bedaquiline* bukan air distilasi untuk mencegah penggumpalan obat.

^dLarutan WS clofazimine tidak stabil, sehingga harus selalu disiapkan *fresh* atau baru dari larutan SS. Aliquot larutan SS (10.000 mg/L) dalam 2 (dua) volume yaitu 110 µl dan 420 µl).

3) Persiapan Inokulum

Persiapan inokulum untuk uji kepekaan OAT lini kedua sama dengan persiapan inokulum untuk uji kepekaan OAT lini pertama (hal 108).

4) Inokulasi dan Inkubasi

Inokulasi dan inkubasi untuk uji kepekaan OAT lini kedua sama dengan inokulum dan inkubasi untuk uji kepekaan OAT lini pertama (hal 109).

Mesin BACTEC MGIT 960 menginkubasi media yang telah diinokulasi dengan suhu $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ secara konstan di dalam kabinet tempat tabung ditempatkan. *Barcode* pada media dipindai atau di *scan* dan media ditempatkan ke mesin menggunakan fitur entri untuk uji kepekaan. Tabung harus ditempatkan dalam urutan yang benar dalam set *carier* sesuai dengan instruksi manufaktur. Perangkat lunak ini diprogram untuk interpretasi hasil, hanya untuk *set carier* yang telah dimasukkan ke mesin sebelumnya. Pengaturan *default*/standar uji kepekaan obat lini pertama tidak berlaku untuk obat lini kedua, karena tidak ada pilihan untuk nama dan konsentrasi obat lini kedua pada mesin MGIT. Oleh karena itu, ada prosedur spesifik untuk uji kepekaan obat lini kedua yaitu

1. Interpretasi manual

Gunakan *set carrier* uji kepekaan dan masukkan ke dalam mesin dengan pilihan "*undefined*" drug. Mesin akan memantau pertumbuhan dan nilai GU dari semua tabung dalam satu set. Setelah kontrol mencapai pertumbuhan ≥ 400 GU, maka mesin akan mengakhiri proses uji dan menandai sebagai selesai, tetapi tidak menginterpretasi hasil. Hasil perlu diinterpretasi secara manual.

2. Interpretasi mesin

Gunakan *set carrier* uji kepekaan dan masukkan ke dalam mesin dengan pilihan seperti obat lini pertama, seolah-olah obat SIRE, tetapi kode setiap tabung mengindikasikan obat sebenarnya. Misal, kode streptomisin digunakan untuk capreomycin atau kode isoniazid digunakan untuk obat lain. Ketika uji telah selesai, mesin akan mencetak hasil dengan interpretasi seolah-olah streptomisin dan isoniazid. Pengguna harus mengganti kode yang telah tercetak tersebut dengan memasukkan nama obat sebenarnya. Cara ini tidak dianjurkan karena risiko kesalahan transkripsi sangat mungkin terjadi saat pengkodean nama obat.

5) Interpretasi Hasil

Mesin telah mengkonfigurasi secara otomatis pada semua set, kecuali protokol “*undefined drug*”. Ketika GU dari tabung GC mencapai ≥ 400 pada waktu yang telah ditentukan sesuai protokol, maka mesin akan memberi tanda bahwa uji kepekaan telah selesai dan memberikan interpretasi hasil. Untuk pilihan “*undefined drug*”, GU tercatat pada laporan uji kepekaan, tetapi tidak ada interpretasi hasil oleh mesin. Interpretasi harus dilakukan secara manual sesuai dengan kriteria, yaitu

1. S = *susceptible* atau sensitif, jika GU tabung media obat < 100 .
2. R = resistan, jika GU tabung media obat ≥ 100 .

Jika ada hasil “error”, misal X200 dan X400, maka interpretasi sama dengan pengujian uji kepekaan obat lini pertama dan memerlukan pengulangan seperti yang telah dijelaskan sebelumnya.

6) Pelaporan Hasil

Hasil harus dapat dilaporkan sesegera mungkin. Saat pelaporan hasil, laboratorium perlu menyertakan metode yang digunakan dan jenis antibiotik beserta konsentrasinya.

7) Quality Control (QC)

Penting untuk selalu menyertakan kuman kontrol saat pengerjaan uji kepekaan secara berkala yaitu setiap batch yang diuji. Kuman kontrol yang digunakan adalah *strain M. tuberculosis H37Rv* (ATCC - *American Type Culture Collection* - nomor 27294) yang *susceptibel* atau peka terhadap semua OAT. Kuman dengan strain resistan dapat juga disertakan untuk evaluasi preparasi obat.

BEBERAPA INFORMASI TERKAIT UJI KEPEKAAN

1) Faktor Dilusi

Penghitungan faktor dilusi media MGIT adalah 7 ml media + 0,8 ml suplemen SIRE + 0,5 ml inokulum = 8,3 ml. Penambahan 0,1 ml larutan antibiotik di 8,3 ml media = dilusi 1:84.

2) Set Carrier

Macam set carier pada uji kepekaan BACTEC MGIT 960 antara lain:

- a) 2 (dua) tabung : 1 (satu) GC + 1 (satu) tabung uji.
- b) 3 (tiga) tabung : 1 (satu) GC + 2 (dua) tabung uji.
- c) 4 (empat) tabung : 1 (satu) GC + 3 (tiga) tabung uji.
- d) 5 (lima) tabung : 1 (satu) GC + 4 (empat) tabung uji.
- e) 8 (delapan) tabung : 1 (satu) GC + 7 (tujuh) tabung uji

3) Preparasi dan Penyimpanan OAT

Preparasi OAT yang pertama dilakukan adalah memeriksa kontainer atau kemasan obat, sertifikat analisis untuk nomor batch/lot, tanggal kadaluarsa, potensi, penyimpanan dan informasi kelarutan. Semua obat antimikroba telah dilakukan uji unit standar aktivitas (potensi). Nilai ini berbeda antara satu obat dengan obat lain dan dari satu *lot* dengan *lot* lain. Oleh karena itu, laboratorium harus menstandarkan larutan

antimikroba berdasarkan informasi dari produsen dan potensi serbuk atau bubuk obat yang digunakan pada lot tersebut.

Nilai potensi biasa disertakan pada sertifikat analisis dari pabrikan. Analisis yang dilakukan antara lain pengujian dengan uji kromatografi cair (*High Performance Liquid Chromatography* – HPLC), analisis kadar air (misal, analisis Karl Fischer atau penurunan berat massa karena proses pengeringan), dan *the salt/counter-ion fraction* (jika senyawa disuplai sebagai garam, bukan asam atau basa bebas). Potensi dituliskan dalam bentuk presentase atau satuan $\mu\text{g}/\text{mg}$ (w/w). Jika sertifikat tidak disertakan, maka coba untuk mendapatkan informasi dari pabrikan. Jika informasi potensi tidak tersedia, maka harus dihitung analisis kadar air dan ditentukan apakah obat dalam bentuk garam, seperti fosfat, sulfat atau hidroklorida. Faktor tersebut harus diperhitungkan saat penentuan potensi.

Serbuk atau bubuk obat harus ditimbang secara akurat dengan timbangan analitik yang telah terkalibrasi. Obat yang masih berupa serbuk atau bubuk murni disimpan pada tempat yang sejuk dan kering (misal, desikator) dan dimasukkan ke dalam refrigerator (2-8 °C) atau sesuai dengan rekomendasi dari pabrik. Saat desikator dikeluarkan dari lemari es, biarkan desikator menjadi hangat sampai suhu kamar sebelum dibuka untuk menghindari kondensasi air.

4) Perhitungan Untuk Preparasi OAT

- a) Potensi atau aktivitas spesifik obat disesuaikan dengan sertifikat analisis obat.
- b) Potensi mungkin tidak mendekati 100% karena:
 - Ada bahan lain di dalam bubuk, misalnya impuritas, pengawet atau pelarut/ *solubilizers*.
 - Standar potensi bisa saja sudah berumur sekian dekade dan proses pembuatan obat telah berubah sejak standar tersebut ditetapkan.
- c) Cara hitung potensi untuk obat dengan komponen non aktif (misal: Moxifloxacin hidroklorid, Kanamycin Sulfat, Capreomycin Sulfat).

$$\text{Potensi} = (\text{assay purity}) \times (\text{active fraction}) \times (1 - \text{water content})$$

Keterangan :

- Potensi = bentuk % atau $\mu\text{g}/\text{mg}$ (w/w).
- Assay purity = 99,8% (dari HPLC, biasa tertulis di sertifikat analisis sebagai persentase)
- Active fraction = 100% (jika bebas asam/basa dan bukan garam).
Atau,
Active fraction = Massa molekul komponen non aktif dikurangi massa molekul asam/basa /garam).
- Water content = kandungan air yang diukur dengan analisis *Karl Fischer* atau dengan penurunan massa saat pengeringan (misal, 12,1% (w/w)).

Contoh perhitungan potensi Moxifloxacin HCl

Sertifikat analisis:

Assay purity / HPLC	= 96,9%
Massa molekul Moxifloxacin	= 437,9
Massa molekul HCl (tabel periodik)	= H + Cl = 1,008 + 35,453
	= 36,461
Kandungan air (Karl Fischer)	= 3,09 %

$$\begin{aligned}\text{Potensi} &= (\text{assay purity}) \times (\text{active fraction}) \times (1 - \text{water content}) \\ &= (969) \times \{(437,9 - 36,461) / 437,9\} \times (1 - 0,0309) \\ &= (969) \times (0,92) \times (0,969) \\ &= 863,8 \mu\text{g}/\text{mg} = 86,38 \%\end{aligned}$$

- d) Potensi dimasukkan ke dalam perhitungan berat obat untuk mendapatkan perhitungan jumlah bubuk obat yang digunakan.
- e) Formula yang digunakan untuk menimbang jumlah obat dalam volume pengencer yang diperlukan untuk mendapatkan *stock solution* (SS) yang diinginkan.

$$\text{Massa (mg)} = \frac{\text{Volume (ml)} \times \text{Konsentrasi } (\mu\text{g}/\text{ml})}{\text{Potensi } (\mu\text{g}/\text{mg})}$$

Atau ,

$$\text{Volume (ml)} = \frac{\text{Massa (mg)} \times \text{Potensi } (\mu\text{g}/\text{mg})}{\text{Konsentrasi } (\mu\text{g}/\text{ml})}$$

Keterangan :

- Volume (ml) : volume SS yang diinginkan
- Potensi ($\mu\text{g}/\text{mg}$): aktivitas atau potensi yang spesifik dari serbuk standar pabrikan. Nilai ini ada di label atau sertifikat analisis
- Konsentrasi ($\mu\text{g}/\text{ml}$) : konsentrasi SS yang diinginkan
- Massa (mg): berat serbuk yang dibutuhkan untuk preparasi volume SS untuk mencapai konsentrasi SS yang diinginkan.

- f) Obat dengan potensi 100% atau mendekati (>98%) bisa ditimbang langsung (dapat diasumsikan bahwa 10 mg serbuk = 10 mg obat aktif).
- 5) Persiapan SS atau Larutan Stok
Siapkan SS agen antimikroba pada konsentrasi minimal 1000 g/mL atau 10 kali konsentrasi tertinggi yang akan diuji, mana yang lebih besar. Beberapa agen antimikroba memiliki kelarutan yang terbatas dan mungkin memerlukan persiapan konsentrasi stok yang lebih rendah. Dalam semua kasus, pertimbangkan petunjuk yang diberikan oleh

produsen obat sebagai bagian dari penentuan kelarutan. Beberapa obat harus dilarutkan dalam pelarut selain air. Dalam beberapa kasus:

- Gunakan sedikit pelarut atau sejumlah kecil volume pengencer yang sesuai untuk melarutkan bubuk antimikroba.
- Pengenceran disesuaikan dengan jenis OAT sesuai dengan tabel 21 (air distilasi steril, atau DMSO, atau NaOH), kemudian diencerkan atau didilusikan dengan air distilasi (atau DMSO untuk bedaquiline, delamanid, dan clofazimine) untuk mencapai konsentrasi akhir.
- Untuk pelarut yang berpotensi toksin atau racun, lihat lembar data keamanan bahan yang tersedia dari produsen.

Larutan harus disterilkan dengan filter membran (kecuali, bedaquiline), misal, selulose nitrat atau campuran selulosa ester yang mengandung nitrat dan asetat dengan ukuran pori 0,22 μm . Kertas, asbes atau *sintered glass filter* dapat menyerap sebagian besar obat tertentu sehingga tidak direkomendasikan sebagai filter membran. Sekitar 10-15 % bagian pertama dari larutan yang telah difilter harus dibuang karena pada awalnya beberapa obat dapat terabsorpsi ke dalam filter. Setiap kali penyaringan dilakukan, penting untuk mendokumentasikan tidak ada adsorpsi dengan prosedur pengujian yang tepat. Kontaminasi agen antimikroba sangat jarang, larutan yang telah disiapkan secara aseptik, tetapi tidak disterilkan dengan filter umumnya dapat diterima.

Preparasi *stock solution* OAT dialokasikan dalam volume kecil pada cryotube atau cryovial berbahan polypropylene atau polyethylene secara aseptik untuk disimpan pada suhu rendah yaitu $-70\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Cryotube atau cryovial disedl serta diberi label dan tanggal pembuatan. Waktu penyimpanan bisa mencapai 1 (satu) tahun (atau hingga tanggal kadaluarsa jika sebelum setahun) tanpa kehilangan aktivitas secara signifikan. Penyimpanan pada suhu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ masih bisa diterima, tetapi obat menjadi kurang stabil dan hanya bertahan selama 6 (enam) bulan (kecuali, bedaquiline bertahan selama 3 bulan). Obat yang disimpan berupa larutan pekat lebih baik dibandingkan larutan encer. Larutan yang beku harus dicairkan dulu pada suhu kamar dan segera digunakan pada hari yang sama. Larutan yang sudah mencair tersebut tidak boleh dibekukan ulang. Jumlah yang tersisa untuk uji kepekaan harus dibuang.

6) Penyelesaian eror x200 dan x400

Jika terjadi eror x200 invalid, maka

- a) Siapkan tabung biakan baru dari tabung biakan primer.
 - Vortex tabung biakan primer, diamkan 5-10 menit.
 - Buat dilusi 1:100 dengan salin atau kaldu 7H9.
 - Tambahkan 0,8 ml MGIT *growth supplement* ke tabung MGIT baru, tanpa PANTA.
 - Inokulasikan 0,5 ml dari tabung dilusi 1:100 ke tabung MGIT baru.
 - Tutup rapat, homogenkan dengan membalik tabung 3-4x.
 - Masukkan ke dalam mesin MGIT dan evaluasi sampai tabung positif.

- Jika tabung positif, cek kemurnian dengan pengecatan ZN dan pertumbuhan di media agar darah atau BHI agar.
 - Jika pertumbuhan murni dan tidak ada kontaminasi, reinkubasi tabung sampai hari ke 3-5.
 - Catat GU pada lembar kerja laboratorium.
- b) Siapkan tabung MGIT baru (untuk GC dan media obat).
- Ambil obat dari freezer, pindahkan di refrigerator selama proses pelabelan dan penambahan suplemen.
 - Tambahkan secara aseptik 0,8 ml suplemen obat (SIRE atau PZA) ke setiap tabung MGIT baru.
 - Tambahkan secara aseptik 0,1 ml setiap obat ke tabung MGIT baru yang telah dilabel sesuai dengan nama obat.
- c) Persiapan uji kepekaan baru
- Vortex biakan positif hari ke 3-5
 - Diamkan tabung selama 5-10 menit untuk mengendapkan gumpalan besar. Gunakan supernatant tanpa mengganggu sedimen.
 - Tambahkan 0,5 ml biakan positif (tanpa dilusi) dengan pipet transfer secara aseptik ke semua tabung MGIT yang sudah berisi obat.
 - Tutup tabung dengan rapat.
 - Homogenkan dengan membalik tabung 3-4x.
 - Inokulasikan 0,5 ml biakan positif (dilusi 1:10 untuk PZA, dilusi 1:100 untuk SIRE dan obat lini kedua) ke tabung GC.
 - Masukkan ke dalam mesin MGIT dan evaluasi sampai sinyal menunjukkan proses lengkap.
- d) Uji kepekaan bisa diterima, jika:
- Mesin menunjukkan sinyal positif pada rentang waktu yang tepat.
 - Cek tabung secara visual untuk melihat tanda kontaminasi.
 - Pengecatan ZN dan subbiakan pada media agar darah / BHI agar untuk memastikan kontaminasi.
 - Bandingkan uji kepekaan dengan hasil uji sebelumnya jika ada.
 - Investigasi dan selesaikan jika ada perbedaan hasil.
 - Laporkan hasil uji kepekaan sesuai dengan prosedur.
- e) Uji kepekaan tidak diterima, jika:
- Mesin menunjukkan error.
 - Tandai hasil sebagai “uji gagal” pada lembar kerja laboratorium dan beri catatan penjelasan.

Jika terjadi eror x400 invalid, maka

- a) Amati GC secara visual dan cek kemurnian (ZN dan media agar darah / BHI agar) seperti pada tabel di bawah ini.

Tindak lanjut dari eror x400

Pengamatan visual	BTA (ZN)	media agar darah / BHI agar	Kesimpulan	Tindak lanjut
GC keruh	positif	tumbuh	Biakan positif (BTA dan terkontaminasi)	<ul style="list-style-type: none"> Pastikan bahwa BTA bukan NTM, bandingkan dengan pengecatan ZN dari media agar darah / BHI agar. Pastikan BTA tersebut adalah MTBC. Jika benar MTBC yang terkontaminasi, maka murnikan. Jika sudah murni, maka lakukan langkah berikut di bawah untuk pengulangan uji kepekaan.
GC tidak keruh	positif	tidak tumbuh	Pertumbuhan berlebih	<ul style="list-style-type: none"> Pastikan bahwa BTA adalah MTBC, identifikasi jika perlu. Lakukan langkah berikut di bawah untuk pengulangan uji kepekaan.
GC keruh atau tidak keruh	negatif	tumbuh	Kontaminasi	<ul style="list-style-type: none"> Buang. Pastikan bahwa biakan primer adalah MTBC dan ulang uji kepekaan jika sesuai.

- b) Siapkan tabung biakan baru dari tabung biakan primer.
- Vortex tabung biakan primer, diamkan 5-10 menit.
 - Buat dilusi 1:100 dengan salin atau kaldu 7H9.
 - Tambahkan 0,8 ml MGIT *growth supplement* ke tabung MGIT baru, tanpa PANTA.
 - Inokulasikan 0,5 ml dari tabung dilusi 1:100 ke tabung MGIT baru.
 - Tutup rapat, homogeakan dengan membalik tabung 3-4x.
 - Masukkan ke dalam mesin MGIT dan evaluasi sampai tabung positif.
 - Jika tabung positif, cek kemurnian dengan pengecatan ZN dan pertumbuhan di media agar darah atau BHI agar.
 - Jika pertumbuhan murni dan tidak ada kontaminasi, catat GU pada lembar kerja laboratorium.
- c) Siapkan tabung MGIT baru (untuk GC dan media obat).
- Ambil obat dari freezer, pindahkan ke refrigerator selama proses pelabelan dan penambahan suplemen.
 - Tambahkan secara aseptik 0,8 ml suplemen obat (SIRE atau PZA) ke setiap tabung MGIT baru.
 - Tambahkan secara aseptik 0,1 ml setiap obat ke tabung MGIT baru yang telah dilabel sesuai dengan nama obat.

- d) Persiapan uji kepekaan baru
- Vortex biakan positif hari ke 1-2
 - Diamkan tabung selama 5-10 menit untuk mengendapkan gumpalan besar. Gunakan supernatant tanpa mengganggu sedimen.
 - Tambahkan 0,5 ml biakan positif (tanpa dilusi) dengan pipet transfer secara aseptik ke semua tabung MGIT yang sudah berisi obat.
 - Tutup tabung dengan rapat.
 - Homogenkan dengan membalik tabung 3-4x.
 - Inokulasikan 0,5 ml biakan positif (dilusi 1:10 untuk PZA, dilusi 1:100 untuk SIRE dan obat lini kedua) ke tabung GC.
 - Masukkan ke dalam mesin MGIT dan evaluasi sampai sinyal menunjukkan proses lengkap.
- e) Uji kepekaan bisa diterima, jika:
- Mesin menunjukkan sinyal positif pada rentang waktu yang tepat.
 - Cek tabung secara visual untuk melihat tanda kontaminasi.
 - Pengcatan ZN atau subbiakan pada media agar darah / BHI agar untuk memastikan kontaminasi.
 - Bandingkan uji kepekaan dengan hasil uji sebelumnya jika ada.
 - Investigasi dan selesaikan jika ada perbedaan hasil.
 - Laporkan hasil uji kepekaan sesuai dengan prosedur.
- f) Uji kepekaan tidak diterima, jika :
- Mesin menunjukkan error.
 - Tandai hasil sebagai “uji gagal” pada lembar kerja laboratorium dan beri catatan penjelasan.

7) Interpretasi dan Pelaporan Hasil

Strain resisten tertentu tumbuh sangat lambat dalam media MGIT dan hasil mungkin tidak dicapai dalam 13 hari dengan standar inokulum. Kasus seperti ini, jumlah inokulum yang digunakan harus ditingkatkan dengan mengurangi pengenceran dari suspensi biakan (misal, inokulum tanpa pengenceran yaitu tabung MGIT yang positif hari ke 2 atau hari ke 3, atau inokulum dengan pengenceran 1:2 dari tabung yang positif hari ke-4 atau ke-5) untuk mencapai hasil yang dapat dilaporkan. Jika interpretasi hasil adalah resisten, maka periksa media secara visual dan pastikan bahwa uji biakan murni atau tidak kontaminasi (ambil bagian yang keruh, kemudian teteskan pada media BAP atau BHI agar). Jika uji biakan adalah NTM atau *M. tuberculosis* tetapi terkontaminasi dengan NTM atau bakteri lain, maka hasil mungkin salah dilaporkan sebagai resisten. Untuk melihat kemurnian, maka buat apusan ZN dan cari gumpalan dan gambaran *cord formation* yang merupakan bentukan khas dari *M. tuberculosis*.

Jika ada hasil yang tidak terduga atau resistensi tunggal terhadap agen uji, maka direkomendasikan untuk memeriksa kemurnian inokulum dan melakukan pengulangan DST jika perlu untuk memverifikasi resistensi.

Disarankan juga untuk menggunakan tes cepat untuk mengidentifikasi *M. tbc*. Beberapa tes cepat adalah uji MPT64 atau tes molekuler, misal LPA.

8) Kuman Kontrol

Strain kuman kontrol yang direkomendasikan adalah strain *M. tuberculosis H37Rv* (*American Type Culture Collection 27294*). Jika tidak ada, maka kuman kontrol yang digunakan dapat berasal dari isolat klinis pasien yang mempunyai karakteristik baik, yaitu *susceptible* atau peka terhadap semua OAT lini pertama, sebagai alternatif. Yang paling direkomendasikan adalah strain kuman kontrol yang telah dilakukan pemeriksaan *whole genome sequencing* (WGS) dan diketahui pola *wild type* untuk seluruh gen penyandi resistansi.

Prosedur uji untuk organisme QC sama dengan yang dijalani untuk isolat klinis. Inokulum harus dihasilkan dari biakan *fresh* yang ditumbuhkan dari media MGIT atau LJ. Jika bakteri QC ditumbuhkan dari media padat, ikuti prosedur untuk mempersiapkan suspensi sesuai dengan yang disebutkan sebelumnya. Suspensi ini dapat disimpan dalam keadaan beku suhu $-70\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 6 (enam) bulan sampai dengan 1 (satu) tahun. QC LJ dilakukan tiap *batch* pembuatan media LJ, sedangkan QC MGIT dilakukan setiap membuka reagen baru.

9) Uji Validasi Metode atau Prosedur Baru

Jika sebuah laboratorium akan menerapkan metode atau prosedur baru, maka harus melakukan uji validasi metode atau prosedur. Hal ini sangat penting untuk membandingkan hasil uji metode atau prosedur baru terhadap metode standar sebelumnya. Hasil uji validasi harus reliabel dan sesuai. Prosedur uji validasi yang dilakukan antara lain:

- a) Membandingkan metode atau prosedur baru dengan metode atau prosedur lama.

Pilih 10-15 isolat, termasuk salah satunya harus *M. tuberculosis H37Rv*. Isolat harus diambil dari isolat klinis, beberapa strain yang *susceptible* atau peka terhadap semua OAT dan beberapa strain yang resistan terhadap OAT lini kedua yang akan diuji. Isolat dari tes panel atau uji profisiensi dari SRL atau NRL lebih direkomendasikan karena telah teruji oleh beberapa laboratorium pemeriksa. Jika isolat tidak ada yang resistan terhadap OAT lini kedua, maka dapat menggunakan isolat yang resistan terhadap isoniazid dan rifampicin, serta mungkin resistan terhadap OAT lini pertama dan kedua lainnya.

Siapkan koloni dari subbiakan atau subkultur *fresh* atau baru seperti yang dijelaskan sebelumnya. Teknik yang digunakan untuk uji validasi adalah metode uji kepekaan standar yang telah direkomendasikan. Pengujian dengan metode referensi dan metode baru harus dilakukan pada waktu yang sama dan menggunakan

suspensi isolat yang sama. Konsentrasi OAT yang digunakan harus sesuai dengan yang direkomendasikan untuk setiap prosedur, bisa bervariasi sesuai dengan prosedur yang digunakan.

b) Hasil yang diharapkan

Jika hasil uji validasi menunjukkan ada ketidaksesuaian, maka uji harus diulang dengan kedua metode secara bersamaan. Hasil uji validitas antara metode baru dan metode referensi yang diharapkan adalah 90% kesesuaian (lebih baik jika > 95%). Kuman kontrol H37Rv harus menunjukkan hasil susceptible atau peka terhadap semua OAT pada setiap batch pengujian.

10) Uji Reprodusibilitas

a) Prosedur uji

Hal penting yang harus diperhatikan dalam pengujian adalah reprodusibilitas artinya bahwa uji menunjukkan hasil sama jika dilakukan pengulangan beberapa kali. Jika ada lebih dari satu teknisi di laboratorium yang mengerjakan uji, maka harus dipastikan bahwa tidak ada variasi tehnik yang digunakan oleh teknisi berbeda. Prosedur yang dilakukan adalah pengulangan uji sesuai metode referensi setidaknya minimal 5 (lima) kali uji untuk semua isolat. Pengujian berulang harus dilakukan pada hari yang berbeda. Uji yang dilakukan sejumlah 5-7 isolat, termasuk kuman kontrol *M. tuberculosis H37Rv*, 2-3 isolat *susceptible* atau peka terhadap OAT dan 2-3 isolat resistan terhadap OAT.

b) Hasil yang diharapkan

Uji reprodusibilitas harus menunjukkan hasil yang sama sepenuhnya. Jika ada perbedaan atau *discordance*, maka bisa dilakukan penelusuran kemungkinan variasi dalam tehnik pengerjaan dan dilakukan tindakan korektif untuk perbaikan.

7. PEMANTAPAN MUTU

Program Tuberkulosis Nasional harus didukung oleh laboratorium yang dapat memberikan hasil pemeriksaan dengan jaminan mutu dan dapat diandalkan. Jaminan mutu adalah serangkaian kegiatan yang dirancang untuk mengevaluasi pekerjaan dengan mengukur mutu atau kualitas dari suatu produk (baca: diagnosis), untuk mendeteksi kesalahan dalam pengembangan dan menetapkan tindakan korektif. Jaminan mutu ini merupakan bagian dari sistem manajemen yang bertujuan untuk memberikan keyakinan bahwa laboratorium memenuhi persyaratan mutu.

Setiap komponen dalam jaminan mutu tidak berdiri sendiri, tetapi merupakan bagian yang tidak terpisahkan dan saling terkait satu sama lain. Mutu di laboratorium bukan hanya faktor teknis (kesesuaian, reagen yang baik, metode dan peralatan tepat, standarisasi, kriteria baik untuk penerapan metode dan interpretasi hasil), tetapi juga faktor administrasi (organisasi, sistematisasi prosedur, ketersediaan persediaan, pemeliharaan peralatan, pencatatan dan pelaporan, lingkungan yang sesuai). Sistem manajemen mutu telah mengamati semua faktor yang mempengaruhi mutu setiap proses dalam tahap pra analitik, analitik dan paska analitik baik secara langsung maupun tidak langsung. Pembentukan sistem manajemen mutu membutuhkan aktivitas antara lain perencanaan, evaluasi, identifikasi kegagalan yang prioritas akan diperbaiki, pembentukan program pelatihan ulang, dukungan teknis dan atau administratif untuk memperbaiki kekurangan, serta mengukur dampak dari sistem. Hasil rangkaian kegiatan akan membentuk suatu proses interaktif dan berkesinambungan.

Komponen Pemantapan Mutu Laboratorium Tuberkulosis

Pemantapan mutu laboratorium tuberkulosis terdiri atas 4 (empat) komponen utama, yaitu:

1. Pemantapan mutu internal (PMI)
2. Pemantapan mutu eksternal (PME)
3. Evaluasi indikator kinerja
4. Peningkatan Mutu

a. Pemantapan Mutu Internal

Pemantapan mutu internal adalah suatu proses pemantauan yang terencana, sistematis, dan efektif yang dilakukan oleh laboratorium itu sendiri untuk mendeteksi dan menganalisis kesalahan yang terjadi.

Kunci keberhasilan pemantapan mutu internal adalah :

- Pelatihan yang adekuat, motivasi dan komitmen petugas
- Pelaksanaan SPO (Standar Prosedur Operasional)
- Kemauan menerima dan memperbaiki kesalahan
- Komunikasi efektif

1) Tahap Pra Analitik

Pengumpulan spesimen harus tepat, benar dan sesuai dengan lokasi infeksi. Cara pengumpulan spesimen harus dapat meminimalkan kontaminan dengan menggunakan wadah atau kontainer steril. Waktu pengumpulan juga optimal dengan mempertimbangkan kemungkinan besar untuk mendapatkan mikroorganisme *M. tuberculosis*, misal dahak pagi lebih direkomendasikan daripada dahak sewaktu. Volume spesimen cukup dan disesuaikan dengan kebutuhan pemeriksaan. Pelabelan spesimen harus tepat untuk memastikan tidak ada pencampuran spesimen.

Transportasi spesimen juga harus sangat diperhatikan untuk menjaga mutu atau kualitas spesimen dengan meminimalkan perubahan yang terjadi. Jika spesimen harus dirujuk ke laboratorium lain dan mengakibatkan penundaan proses, maka penyimpanan dan kondisi pengiriman harus tepat dan sesuai dengan jenis bahan uji. Pada umumnya penyimpanan dilakukan di lemari pendingin yaitu suhu 2-8 °C. Apabila tersedia media transpor yang sesuai, maka spesimen dapat dimasukkan ke media tersebut.

Pengamatan awal dan penanganan spesimen harus dilakukan secara hati-hati dengan menggunakan alat pelindung diri (APD). Penerimaan spesimen meliputi dokumentasi data penting dalam buku log termasuk identitas. Pengamatan visual untuk mengetahui apakah spesimen memenuhi kriteria kelayakan. Jika tidak layak, maka laboratorium boleh melakukan penolakan atau *rejection*.

2) Tahap Analitik

Kontrol mutu tahap analitik bergantung pada beberapa faktor berikut, yaitu (1) Keandalan peralatan melalui pemeliharaan berkala dan terjadwal, baik rutin maupun preventif; (2) Kalibrasi alat ukur yang memadai; (3) Stabilitas, integritas dan efisiensi reagen; (4) Keandalan proses dengan prosedur operasi standar; (5) Spesifitas, presisi dan akurasi tes tinggi; (6) Keahlian dan keterampilan personel dan mengikuti perkembangan ilmu pengetahuan; (7) Memilih teknik yang tepat dan andal dengan ketersediaan reagen; (8) Kontrol mutu internal yang baik.

a) Pemantapan Mutu Internal Media

(1) Media Biakan Padat

- Gunakan telur segar (kurang dari 7 hari) untuk penyiapan media LJ. Dianjurkan telur bebek yang bukan dari peternak besar.
- Periksa waktu koagulasi dan temperatur untuk pembuatan media telur. Buang media yang mengalami dekolonisasi, mengandung gelembung atau tanda-tanda pemanasan berlebih.
- Ciri-ciri umum media yang baik:
 - Warna media sama pada *batch* yang sama.

Jika ada perbedaan warna, maka proses homogenisasi tidak baik atau ada materi residu tertinggal dalam botol tersebut. Warna hijau lebih gelap disebabkan *malachite green* terlalu banyak atau media terlalu asam (pH rendah), sedangkan warna media kekuningan disebabkan kualitas *malachite green* jelek atau media terlalu basa/alkalis (pH tinggi) atau pemanasan terlalu tinggi. Media yang berbeda warna tersebut sebaiknya dibuang.

- Media cukup padat dan tidak mudah luruh.
Bila temperatur inspikator terlalu rendah, media akan mudah luruh. Cara memeriksa kualitas tekstur media adalah pengambilan 1 atau 2 media secara acak dan mengetukkan pada telapak tangan sebanyak 2-3 kali. Media yang cukup padat tidak akan luruh. Media yang tidak cukup padat harus dibuang.
 - Tidak ada gelembung udara.
Gelembung udara pada media terjadi karena temperatur inspikator terlalu tinggi. Proses homogenisasi tidak merata juga dapat menyebabkan gumpalan. Media warna kuning dan mengandung gelembung udara tidak layak digunakan dan harus dibuang.
 - Media tidak kering.
Sedikit air dalam wadah media adalah hal baik. Jika jumlah air terlalu banyak, harus dibuang secara aseptik. Sedikit air akan mencegah pengeringan saat media telah diinokulasi dan diinkubasi dalam keadaan tutup longgar.
- Uji sterilitas media
 - Ambil 5% -10 % dari jumlah tiap *batch* pembuatan. Inkubasi pada suhu 35 °C – 37 °C selama 2 x 24 jam. Dapat juga dilakukan inkubasi semua media selama 1 x 24 jam.
 - Jika tidak didapatkan pertumbuhan koloni, maka media dapat digunakan. Jika ada pertumbuhan koloni, maka seluruh media dibuang dan buat media baru.
 - Uji kesuburan media
Uji kesuburan media tanpa obat dapat menggunakan kuman kontrol *M. fortuitum* atau *Mycobacterium* lain yang termasuk *rapid grower* dengan 0.5 - 1.0 standar *McFarland* pada dilusi 10⁻¹. Jika tidak ada pertumbuhan dalam waktu 5 (lima) hari, maka media dikategorikan tidak baik dan tidak layak dipakai. Media yang baik akan tampak pertumbuhan bakteri yang cukup rapat.

- Penyimpanan media
Media dengan kualitas yang baik dilabel dan dicatat tanggal pembuatan serta disimpan dalam refrigerator (5-8 °C). Penyimpanan bisa sampai dengan 4 minggu, tetapi tutup tabung harus rapat. Penempatan tabung tidak boleh menghalangi outlet udara dingin. Jangan menggunakan media yang berumur lebih dari 4 minggu atau media yang kering.

(2) Media Biakan Cair

- Setiap ada penerimaan tabung media cair MGIT, maka cek tanggal kadaluarsa, kondisi tabung (rusak/pecah/bocor), kondisi media (kekeruhan, warna, volume).
- Simpan sesuai dengan suhu yang tertera pada petunjuk pabrikan.
- Protokol uji QC media MGIT dan suplemen pertumbuhan
 - (a) Frekuensi: setiap *lot atau pengiriman* baru dari media atau suplemen.
 - (b) Kontrol: Dilusi *M. tuberculosis* H37Rv atau H37Ra pada media cair 7H9.
 - (c) Hasil yang diharapkan: Tabung MGIT akan menunjukkan hasil positif pada 6 – 10 hari.
 - (d) Tindakan korektif:
 - Jika tabung MGIT tidak menunjukkan hasil positif pada waktu 6-10 hari, maka lakukan pengulangan.
 - Jika hasil pengulangan tidak sesuai yang diharapkan, maka cek viabilitas inokulum, usia koloni, proses thawing dan prosedur lain.
 - Jika prosedur telah sesuai dengan spesifikasinya, segera hubungi teknisi alat MGIT untuk pemeliharaan.
 - (e) Dokumentasi: lakukan pencatatan hasil pada formulir PMI reagen/media. Jika hasil QC tidak sesuai, maka siapkan formulir untuk mendokumentasikan tindakan korektif.
- Preparasi suspensi biakan
 - (a) Subkultur strain *M. tb* pada beberapa media LJ.
 - (b) Inkubasi pada suhu 37 °C ± 1 °C dan observasi pertumbuhan secara visual.
 - (c) Pilih koloni yang tampak baik, konfluen dan murni dengan usia 10-15 hari. Usia koloni terlalu muda atau tua akan memberi hasil yang tidak reliabel.
 - (d) Kerok koloni dengan ose steril tanpa menggores media karena akan mempengaruhi standar kekeruhan.
 - (e) Pindah koloni ke tabung steril tutup ulir (tabung A) yang berisi kaldu 7H9 dengan volume 4 ml dan *glass bead* diameter 2 mm, 6-10 butir (untuk memecah gumpalan).
 - (f) Vortex tabung A minimal 1-2 menit sampai homogen (kekeruhan > 1 standar McFarland).

- (g) Biarkan suspensi selama 15 menit.
 - (h) Ambil supernatan (hindari sedimen) dengan pipet transfer ke tabung steril tutup ulir (tabung B). Biarkan 15 menit.
 - (i) Ambil supernatan (hindari sedimen) dengan pipet transfer ke tabung steril tutup ulir (tabung C).
 - (j) Sesuaikan kekeruhan suspensi tabung C dengan 0,5 standar McFarland dengan penambahan kaldu 7H9 dan homogenkan.
 - (k) Tabung C merupakan stok suspensi untuk QC. Suspensi ini bisa dialiquot pada cryotube/cryovial volume 1,5 ml dan disimpan pada deep freezer suhu -70 s.d -80 °C. Suspensi beku ini bisa digunakan sampai dengan 6 bulan. Jika sudah dicairkan, jangan dibekukan lagi.
- Preparasi dilusi
 - (a) Ambil 1 (satu) tabung aliquot stok suspensi dan biarkan mencair. Alternatif, siapkan suspensi 0,5 standar McFarland dengan 10-15 koloni fresh dari media LJ.
 - (b) Dilusikan stok suspensi (1:5) dengan menambahkan 1 ml suspensi dengan 4 ml akuades atau salin steril (suspensi A) dan homogenkan.
 - (c) Dilusikan 1:10 dengan menambahkan 0,5 ml suspensi A dengan 4,5 ml akuades atau salin steril (suspensi B) dan homogenkan.
 - (d) Dilusikan lagi 1:10 dengan menambahkan 0,5 ml suspensi B dengan 4 ml akuades atau salin steril (suspensi C) dan homogenkan.
 - (e) Dilusi akhir pada suspensi C adalah 1:500.
 - (f) Inokulasikan 0,5 ml suspensi C pada tabung MGIT yang sudah ditambahkan suplemen sebelumnya seperti prosedur biakan pada media cair MGIT.
 - (g) Inkubasikan pada mesin MGIT dan tunggu sampai dengan hasil positif.
 - (h) Lakukan pencatatan dan dokumentasi waktu pertumbuhan pada formulir PMI media.
- (3) Media *blood agar plate* / BHI agar
- Protokol uji QC media BAP/BHI agar dilakukan dengan:
- Uji sterilitas
 - Frekuensi: tiap *batch* pembuatan media
 - Kontrol: 1-3% jumlah media yang dibuat, inkubasi pada suhu 35-37 °C selama 48-72 jam.
 - Hasil yang diharapkan: tidak ada pertumbuhan pada *plate*.
 - Tindakan korektif: jika ada pertumbuhan pada *plate*, ulangi uji sterilitas sejumlah 10 *plate*. Jika ada pertumbuhan pada > 1 *plate*, maka buang seluruh *batch* dan buat media baru.
 - Dokumentasi: lakukan pencatatan hasil pada formulir PMI media.

- Uji performa
 - Frekuensi: tiap *batch* pembuatan media
 - Kontrol: 1-3% jumlah media yang dibuat diuji dengan kuman kontrol *E. coli* atau *S. aureus* (mis, 2% dari 100 ml media pada *batch* tersebut berarti 4 *plate* yang diuji).
 - Hasil yang diharapkan: pertumbuhan kuman kontrol sesuai dengan morfologi dalam waktu 24-48 jam.
 - Tindakan korektif: jika tidak ada pertumbuhan, maka buang seluruh *batch* dan ulangi tes. Jika koloni tidak sesuai morfologi atau terkontaminasi (campuran), maka buang seluruh *batch* dan ulangi uji performa dengan kuman kontrol baru.

b) Pemantapan Mutu Internal Reagen

Tanggal kadaluarsa tiap bahan dan reagen dicatat dan dilabel pada wadah. Semua wadah pewarnaan dan reagen sebaiknya menunjukkan tanggal penerimaan dan pembukaan pertama. Semua bahan yang tidak memenuhi syarat harus dicatat dan segera dibuang. Stok dibatasi untuk waktu 6 bulan dan urutan penggunaan stok sesuai tanggal paling awal untuk menghindari kadaluarsa.

(1) Reagen digesti dan dekontaminasi sputum

- Frekuensi: tiap *batch* baru pembuatan PBS
- Kontrol: kertas pH atau pH meter
- Hasil yang diharapkan: pH PBS = 6,8
- Tindakan korektif: jika pH tidak bisa mencapai 6,8 maka buang seluruh *batch* dan siapkan PBS dari reagen baru.
- Dokumentasi: lakukan pencatatan hasil pada formulir PMI reagen

(2) Uji reagen Ziehl Neelsen

- Frekuensi: tiap *batch* pembuatan reagen atau tiap *lot* baru reagen komersil.
- Kontrol: sediaan direk BTA positif dan negatif.
- Hasil yang diharapkan: Kontrol positif menunjukkan BTA positif dan kontrol negatif menunjukkan BTA negatif.
- Tindakan korektif: jika hasil tidak sesuai, maka buang seluruh *batch* atau *lot* reagen dan siapkan reagen baru.
- Dokumentasi: lakukan pencatatan hasil pada formulir PMI reagen.

(3) Uji identifikasi imunokromatografi

- Frekuensi: tiap *lot* baru kit komersil dan rutin saat pengujian sampel pasien.
- Kontrol: reagen internal pada alat, kontrol positif dan negatif.
- Hasil yang diharapkan: garis kontrol internal terlihat, kontrol positif menunjukkan hasil positif dan kontrol negatif

menunjukkan hasil negatif (seperti pada bahasan bab identifikasi).

- Tindakan korektif: jika hasil tidak sesuai, maka ulangi dengan kit baru.
- Dokumentasi: lakukan pencatatan hasil pada formulir PMI reagen.

(4) Uji kepekaan obat anti-TBC

- Frekuensi: tiap lot baru kit obat atau batch pembuatan stok solution dan rutin saat pengerjaan sampel pasien.
- Kontrol: kuman kontrol *M. tb H37Rv* atau *H37Ra*.
- Hasil yang diharapkan: kuman kontrol menunjukkan hasil *susceptible* atau sensitif semua terhadap OAT (seperti pada bahasan bab uji kepekaan).
- Tindakan korektif: jika hasil tidak sesuai, maka perlu pengulangan uji kepekaan dengan kontrol baru atau kit baru atau stock solution baru (tergantung dari hasil investigasi).
- Dokumentasi: lakukan pencatatan hasil pada formulir PMI reagen.

c) Pemantapan Mutu Internal Alat

Peralatan digunakan sesuai buku manual dan spesifikasi yang ditentukan. Pedoman penggunaan dan pemeliharaan semua alat harus tersedia dan tersimpan. Peralatan harus dimonitor secara teratur agar tercapai akurasi alat dan presisi yang tetap. Peralatan harus rutin dibersihkan secara rutin (harian/ mingguan/ bulanan/ saat dibutuhkan) dan dilakukan pemeliharaan (kalibrasi/ sertifikasi) tiap semester atau tahun (Tabel 23, 24 dan 25).

Tabel 23. Pembersihan alat

Peralatan	Cara Membersihkan	Frekuensi			Keterangan
		Harian	Mingguan	Bulanan	
BSC	Bersihkan permukaan bench dan dinding BSC dengan desinfektan tuberkuloidal. Biarkan 3 menit. Bersihkan kembali dengan alkohol 70%.	Sebelum dan sesudah digunakan			
	Pembersihan interior dan eksterior secara menyeluruh dengan disinfektan yang sesuai				Setidaknya sekali / tahun atau sesuai kebutuhan untuk tumpahan bahan infeksius
	Bersihkan lampu uv dengan alkohol 70%				Setiap 1-2 minggu
Sentrifus	Semprot dinding bagian dalam sentrifus dengan desinfektan (alkohol 70%) dan diamkan 3 menit. Lap kering dengan absorben. Bersihkan permukaan luar	V			

	dengan deterjen lembut, bilas dan keringkan.				
	Ambil carrier dan rendam dalam air sabun hangat. Bilas bersih dan tempatkan secara terbalik untuk mengeringkan.		V		
Inkubator	Bersihkan permukaan interior dan rak dengan lap yang dibasahi sabun, bilas dan keringkan. Lalu semprot dengan alkohol 70%.			V	
Refrigerator	Bersihkan permukaan interior dan rak dengan lap yang dibasahi sabun, bilas dan keringkan.			V	
Deep freezer (-70 sd - 80°C)	Bersihkan penutup kipas dan singkirkan.			V	
	Lakukan defrost dan bersihkan interior.				Saat diperlukan
pH meter	Ganti cairan perendaman elektroda (standar pH 7,0). Bersihkan ujung elektroda.				Saat diperlukan
Slide warmer	Bersihkan permukaan dengan lap yang dibasahi sabun, bilas dan keringkan.		V		
Vortex	Bersihkan permukaan dengan lap yang dibasahi sabun, bilas dan keringkan.		V		
Timbangan analitik	Bersihkan permukaan timbangan dengan kuas/sikat	V			
Mikropipet	Bersihkan bagian luar dengan alkohol 70%	Sebelum dan sesudah digunakan			
Mikroskop	Bersihkan lensa dengan kertas lensa.	V			
MGIT	Bersihkan filter udara di bagian bawah mesin MGIT dengan sikat, cuci dengan air mengalir dan keringkan.			V	
Autoklaf	Penggantian air rutin	V			
	Cek air penampungan tidak melebihi tanda maksimal	V			

Tabel 24. Pemeliharaan dan kalibrasi alat

Peralatan	Jens Pemeliharaan	Harian	Bulanan	Tahunan	Lain
BSC	Cek <i>airflow</i> pada <i>display</i>	V			
	Uji asap (<i>smoke test</i>)		V		
	Uji kualitas udara			V	
	Penggantian hepa filter				Saat diperlukan
	Penggantian uv lamp				Saat diperlukan
	Fumigasi				Saat diperlukan (mis alat baru, setelah tumpahan, penggantian hepa filter,dll)
Sentrifus	Sertifikasi			V	
	Cek timer		V		
	Cek kecepatan		V		
	Cek power supply		V		
	Pemberian pelumas		V		
Inkubator	Kalibrasi timer, kecepatan dan suhu			V	
	Cek suhu	V			
Refrigerator	Periksa seal pintu gasket, elemen pemanas dan pendingin komponen elektronik; pemeliharaan rutin			V	
	Cek suhu	V			
Deep freezer (-70 sd -80°C)	Bersihkan kondensor dan kipas; perawatan rutin			V	
	Cek suhu	V			
	Bersihkan kondensor, pastikan pintu gasket			V	
pH meter	Bersihkan kipas angin dan motor blower; pemeliharaan rutin			V	
	Cek suhu dan standarisasi buffer (pH 4 dan 7)	V			
Timbangan analitik	Kalibrasi			V	
	<i>Adjustment internal</i>	V			
	Pengecekan antara deengan anak timbang		V		
Mikropipet	Kalibrasi				Tiap 3 bulan
Mikroskop	Pemeliharaan rutin (Inspeksi, pembersihan, dan pelumasan)			V	
MGIT	Verifikasi lampu indikator eksternal dan laci	V			
	Verifikasi temperatur	V			
Autoklaf	Pemeriksaan <i>calibration tube</i> , pembersihan menyeluruh dari komponen yang relevan			V	Ada tanggal kadaluarsa
	Cek indikator fisik (suhu dan tekanan)	V			
	Cek indikator kimia (paper tape)	V			
	Cek indikator biologis (bakteri <i>Geobacillus stearothermophyllus</i>)			V	
	Pemeliharaan rutin			V	

Tabel 25. Pemeliharaan rutin alat MGIT

Fungsi	Indikator
Verifikasi lampu indikator eksternal	<ol style="list-style-type: none"> 1. Tutup semua laci. 2. Tekan tombol <maintenance>. 3. Tekan tombol <test indicators>. 4. Tekan tombol <test drawer indicators>. 5. Ketiga lampu indikator eksternal pada ketiga laci harus menyala, begitu juga dengan indikator alarm instrumen. 6. Catat pemeriksaan fungsi ini pada buku pemeliharaan.
Verifikasi lampu indikator laci	<ol style="list-style-type: none"> 1. Buka laci A. Tekan tombol <test green LEDs>. 2. Semua LED hijau di semua stasiun harus menyala. Jika ada yang tidak, maka stasiun tersebut harus diblokir. 3. Tekan kembali tombol <test green LEDs> untuk mematikan LED hijau. 4. Tekan tombol <test red LEDs>. 5. Semua LED merah di semua stasiun harus menyala. Jika ada yang tidak, maka stasiun tersebut harus diblokir. Tekan tombol <test red LEDs> lagi untuk mematikan LED merah. 6. Ulangi langkah 1-5 untuk Laci B dan C. 7. Catat pemeriksaan fungsi ini pada buku pemeliharaan.
Verifikasi temperatur	<ol style="list-style-type: none"> 1. Periksa pembacaan suhu pada termometer internal di setiap laci. 2. Dari layar status utama, tekan tombol <temperature> untuk mengakses pembacaan laci. 3. Pastikan suhu laci saat ini berada dalam 1,5 °C dari pembacaan manual untuk masing-masing laci. 4. Catat semua suhu laci manual dan instrumen pada buku pemeliharaan.

d) Pemantapan Mutu Internal Proses

- (1) Memastikan prosedur tetap dilaksanakan dengan baik pada setiap pemeriksaan.
- (2) Menggunakan alat dan reagen sesuai standar. Kelengkapan alat dapat dibuat dalam bentuk daftar tilik.
- (3) Pemeriksaan spesimen
 - Pemrosesan spesimen dahak diurutkan sesuai dengan kapasitas sentrifus. Gunakan semua rotor saat sentrifugasi.
 - Buat catatan persentase hasil biakan spesimen klinik yang terkontaminasi dan dilakukan evaluasi setiap bulan dengan standar 3-5% (media padat) dan 8-10% (media cair). Angka kontaminasi kurang dari standar mengindikasikan proses dekontaminasi terlalu kuat, berarti tuberkel banyak yang mati. Keterlambatan pengiriman spesimen dapat menyebabkan angka kontaminasi di atas nilai standar. Hal ini menunjukkan bahwa proses dekontaminasi terlalu lemah sehingga perlu dipertimbangkan peningkatan konsentrasi dekontaminan, bukan perpanjangan waktu paparan. Pastikan bahwa seluruh spesimen telah terdigesti sempurna dengan homogenisasi yang benar.
 - Hindarkan kontaminasi silang biakan dengan penggunaan pipet atau ose/loop dan terapkanlah teknik aseptik. Kontaminasi silang sering terjadi melalui aerosol yang mengendap karena

gaya gravitasi ke wadah lain atau gagang pipet yang menyentuh wadah tercemar.

- Perlu curiga pada spesimen yang positif secara berturut-turut atau biakan dengan beberapa koloni yang diikuti biakan positif tinggi.
- Pengukuran turbiditas dengan menggunakan standar kepekatan kuman menurut McFarland untuk inokulum. Gunakan kepekatan antara 0.5-1.0 skala McFarland.
- Penggunaan kontrol positif dan negatif secara rutin untuk evaluasi tehnik pemeriksaan dan memastikan bahwa semua proses mulai dari pemrosesan dahak, inokulasi, identifikasi dan uji kepekaan mempunyai kinerja yang baik. Gunakan isolat yang berumur tidak lebih dari 4 minggu (dianjurkan 2-3 minggu). Kuman kontrol *Mycobacterium tuberculosis H37Rv/H37Ra* yang sensitif terhadap semua obat dan kuman kontrol resistan selalu disertakan pada saat uji kepekaan. Umur kuman kontrol harus sama dengan kuman yang akan diuji. Jika hasil uji kepekaan kuman kontrol tidak dapat dibaca, hasil uji kepekaan isolat dari pasien tidak boleh dibaca atau dikeluarkan hasil.

3) Tahapan Paska Analitik

Jika proses analitik telah selesai, penting untuk mencatat interpretasi hasil pada formulir laporan yang benar dengan cara yang jelas. Diskusi antara dokter klinisi dan laboratorium harus sering dilakukan agar fasilitas laboratorium dapat digunakan dengan benar dan interpretasi hasil tepat.

Laporan hasil harus memasukkan nilai interval referensi dan catatan ekspertise. Laporan harus ditandatangani oleh penanda tangan yang berwenang setelah benar-benar memverifikasi bahwa semua persyaratan kendali mutu telah dipenuhi dan tidak ada kesalahan transkripsi yang terjadi. Hasil harus segera diterbitkan dalam interval yang disepakati setelah proses pemeriksaan selesai.

b. Pemantapan Mutu Eksternal

Pemantapan Mutu External (PME) atau *External Quality Assurance* (EQA) adalah suatu proses yang terencana dan berkesinambungan yang dilakukan oleh laboratorium perbandingan untuk menilai mutu hasil pemeriksaan biakan dan uji kepekaan. PME bisa membantu untuk menilai seluruh proses pengujian, termasuk kualitas hasil yang dikeluarkan. PME juga bisa membandingkan kinerja beberapa lokasi pengujian yang berbeda dan merupakan tantangan dari sistem jaminan mutu. Beberapa tujuan PME yang dapat dicapai antara lain: (1) Memantau kinerja laboratorium dan evaluasi pengukuran kendali mutu; (2) Menetapkan perbandingan antar-laboratorium; (3) Mempengaruhi keandalan pengujian berikutnya; (4) Memastikan kredibilitas laboratorium; (5) Mendorong peningkatan kinerja;

(6) Mempromosikan praktik laboratorium yang baik; (7) Mendorong penggunaan reagen / metodologi standar dan SDM terlatih; (8) Mengidentifikasi kesalahan umum; (9) Menyediakan mekanisme untuk memperbaiki kekurangan teridentifikasi; (10) Memfasilitasi pertukaran informasi; (11) Mendukung akreditasi; dan (12) Pendidikan melalui latihan, laporan dan pertemuan.

Jejaring laboratorium uji kepekaan terdiri atas laboratorium rujukan supranasional (LRS), laboratorium rujukan nasional (LRN) dan laboratorium pelaksana uji kepekaan. PME laboratorium uji kepekaan dilakukan secara berjenjang ke laboratorium di bawahnya.

Metode yang dipakai untuk melaksanakan pengkajian mutu eksternal biakan dan uji kepekaan *M. tbc*, antara lain

1) Uji banding laboratorium biakan dan uji kepekaan TBC

Uji banding laboratorium biakan dan uji kepekaan TBC dilakukan dengan mengirimkan isolat yang sudah dikerjakan oleh laboratorium ke LRN secara mandiri. Kecuali untuk uji banding rutin laboratorium biakan TBC yang terstandarisasi dapat dilakukan oleh LRN atau laboratorium yang telah tersertifikasi oleh LRN secara mandiri.

Uji banding ini terdiri atas:

a. Uji banding bagi calon laboratorium biakan TBC

Uji banding untuk calon laboratorium biakan dilakukan sebagai upaya untuk mengetahui kinerja laboratorium tersebut dengan mengirimkan minimal 10 (sepuluh) isolat. Komposisi isolat yang dikirimkan terdiri dari *M. tbc* dan NTM yang telah ditetapkan oleh LRN berdasarkan data dari calon laboratorium biakan TBC

b. Uji banding bagi laboratorium biakan TBC terstandarisasi

Uji banding bagi laboratorium biakan TBC terstandarisasi merupakan upaya PME yang dilakukan minimal 1 (satu) tahun sekali. Jumlah isolat yang dikirimkan sebanyak 5 (lima) isolat yang terdiri dari 3 (tiga) isolat MTB dan 2 (dua) isolat NTM.

c. Uji banding bagi calon laboratorium uji kepekaan TBC

Uji banding dilakukan sebagai upaya persiapan sebelum pemberian uji profisiensi (panel testing), dengan mengirimkan minimal 10 isolat. Komposisi isolat yang dikirimkan terdiri dari *M. tbc* dan NTM yang telah ditetapkan oleh LRN berdasarkan data dari calon laboratorium biakan dan atau uji kepekaan TBC. Pelaksanaan uji banding bagi calon laboratorium uji kepekaan TBC ini dapat dilaksanakan bersamaan dengan penilaian kesiapan mengikuti tes panel laboratorium uji kepekaan TBC (Lampiran 10).

- 2) Tes panel (panel testing/ *proficiency testing*) untuk laboratorium Uji kepekaan *M. tbc*.

Uji profisiensi secara umum didefinisikan sebagai “suatu program pengiriman spesimen secara berkala kepada anggota kelompok laboratorium untuk dilakukan analisis dan atau identifikasi, yaitu setiap hasil laboratorium dibandingkan dengan hasil laboratorium lain dalam kelompok dan / atau dengan nilai yang ditetapkan, dan dilaporkan ke laboratorium yang berpartisipasi dan lainnya.

Uji profisiensi kultur *M. tbc* dan uji kepekaan terhadap OAT dilakukan oleh LRN dengan mengirim beberapa isolat *M. tbc* agar dapat dikerjakan oleh anggota laboratorium jejaring dengan pemeriksaan sesuai metode standar dan hasil akan dievaluasi. Jika anggota laboratorium bisa menjawab benar sesuai dengan ketentuan, maka LRN akan memberikan sertifikat kelulusan uji profisiensi.

Umpan balik hasil uji profisiensi harus diberikan secara tepat waktu untuk segera dimulai tindakan korektif dengan cepat. Selain hasil supervisi dan bimbingan teknis serta pemantauan rutin indikator kinerja, uji profisiensi membantu untuk identifikasi ketidaksesuaian dan memperbaiki kinerja laboratorium. Uji profisiensi merupakan salah satu syarat akreditasi dan direkomendasikan minimal sekali dalam setahun.

- 3) Supervisi dan Bimbingan Teknis

Supervisi dilaksanakan untuk laboratorium biakan dan uji kepekaan secara regular untuk menilai lokasi pengujian, praktik laboratorium, dan kepatuhan terhadap protokol. Kegiatan ini bisa digunakan sebagai penilaian awal dan tindak lanjut hasil yang bermasalah. Supervisi biasa dilaksanakan oleh P2TB, LRN, dinas kesehatan, mitra lain (tingkat nasional, regional, maupun kabupaten) dan harus terintegrasi dengan sistem jejaring rujukan. Daftar tilik standar harus digunakan untuk konsistensi dan kelengkapan informasi. Supervisi juga dapat memberikan motivasi dan dukungan kepada staf, terutama di laboratorium daerah. Kegiatan ini juga akan mendorong sistem pelaporan dan pemecahan masalah yang cepat, kebutuhan pelatihan ulang, dan tindakan korektif. Selama kunjungan, semua komponen pengujian dan alur kerja laboratorium harus dievaluasi, mulai dari pra analitik sampai paska analitik, serta melakukan evaluasi dan analisis terhadap tren capaian indikator kinerja.

c. Evaluasi Indikator Kinerja

Pemantauan rutin terhadap indikator mutu, juga dikenal sebagai indikator kinerja, merupakan elemen penting jaminan mutu untuk uji diagnostik apapun serta persyaratan sertifikasi ISO. Semua laboratorium harus mengumpulkan dan menganalisis data pengujian setiap bulan dengan

format standar. Target harus ditetapkan pada semua indikator yang dipantau. Setiap perubahan yang tidak dapat dijelaskan dalam indikator mutu, seperti peningkatan tingkat kesalahan (error), perubahan tingkat kepositifan MTB, tingkat resistansi rifampicin, maupun perubahan signifikan dalam volume pengujian yang dilakukan, harus didokumentasikan dan diselidiki.

Serangkaian indikator mutu standar harus digunakan untuk semua lokasi yang melakukan pengujian tertentu sehingga dapat digunakan sebagai perbandingan. Indikator kinerja mutu harus ditinjau oleh manajer laboratorium dan harus selalu dikaitkan dengan tindakan korektif jika ada hasil atau tren yang tidak terduga pada hal yang diamati. Dokumentasi tindakan korektif dan peningkatan selanjutnya serta normalisasi indikator laboratorium setelah tindakan korektif merupakan hal penting. Data indikator mutu laboratorium harus dilaporkan kepada LRN atau P2TB setiap 3 (tiga) bulan.

a. Indikator kinerja umum

Rangkaian indikator mutu berikut berlaku untuk semua jenis pemeriksaan dan sebaiknya dikumpulkan serta dianalisis setiap bulan. Indikator ini digunakan sebagai panduan mutu secara umum. Laboratorium harus meninjau dan menetapkan target yang sesuai dengan situasi lokal.

Tabel 26. Tabel Indikator Kinerja Umum

INDIKATOR	TARGET
Jumlah pengujian	-
Gangguan pelayanan	Tidak ada gangguan
Persediaan / stok	Persediaan atau stok cukup (tidak ada stok kosong)
Pemeliharaan peralatan	Tidak ada penghentian pelayanan karena pemeliharaan alat
<i>Turn around time (TAT)</i>	90% memenuhi target TAT
Pelaporan indikator kinerja	100% pelaporan tepat waktu
Hasil PME	>90% lulus
Hasil PMI	>90% hasil PMI baik
Penolakan spesimen	<1%
Kepuasan pelanggan	>80% pelanggan menyatakan baik
Produktivitas teknisi	Jumlah rata-rata pengujian yang dilakukan teknisi per bulan

(GLI, GLI Practical Guide to TB Laboratory Strengthening, 2017)

b. Indikator kinerja utama

Bagian ini menjelaskan tentang indikator kinerja utama yang direkomendasikan WHO terkait dengan biakan dan uji kepekaan, yang merupakan tambahan dari indikator mutu umum yang telah tercantum dalam Tabel 27 dan 28. Indikator kinerja utama laboratorium biakan

dapat dilihat pada Tabel 27, sedangkan untuk uji kepekaan pada Tabel 28. LRN dan P2TB telah menetapkan target nasional disesuaikan dengan situasi lokal, populasi pasien yang diuji, dan faktor relevan lain. Penyimpangan dari target harus dianalisis dan diselidiki, serta diberikan saran dan rekomendasi untuk tindakan korektif. Indikator kinerja ini harus dikumpulkan oleh laboratorium biakan dan uji kepekaan yang telah tersertifikasi kepada P2TB dan LRN setiap 3 (tiga) bulan.

Tabel 27. Indikator kinerja utama laboratorium biakan

No	Indikator	Deskripsi	Target
1	Tingkat Positifitas Biakan untuk Spesimen Diagnostik	Jumlah dan proporsi biakan positif dari spesimen diagnostik (MTB dan NTM) pada media padat atau cair	15 - 20%
2	Tingkat Positifitas Biakan untuk Spesimen Follow Up	Jumlah dan proporsi biakan positif dari spesimen <i>follow-up</i> (MTB dan NTM) pada media padat atau cair	15 - 20%
3	Tingkat Positifitas Biakan MTB untuk Spesimen Diagnostik	Jumlah dan proporsi biakan positif dari spesimen diagnostik (hanya MTB) pada media padat atau cair	10 - 15%
4	Tingkat Positifitas Biakan MTB untuk Spesimen Follow Up	Jumlah dan proporsi biakan positif dari spesimen <i>follow up</i> (hanya MTB) pada media padat atau cair	10 - 15%
5	Jumlah dan proporsi spesimen diagnostik BTA positif dengan hasil biakan positif MTB	Jumlah dan proporsi spesimen diagnostik BTA positif dengan hasil biakan positif MTB pada media padat atau cair	85 % - 90% (Media Padat) 95 % - 98 % (Media Cair)
6	Jumlah dan proporsi spesimen diagnostik BTA negatif dengan hasil biakan positif MTB	Jumlah dan proporsi spesimen diagnostik BTA negatif dengan hasil biakan positif MTB pada media padat atau cair	20 - 30%
7	Angka Kontaminasi Biakan	Jumlah dan proporsi biakan padat atau cair yang terkontaminasi dan menyebabkan hasil yang tidak dapat diinterpretasikan	3 % - 5% (Media Padat) 8 % - 10 % (Media Cair)
8	TAT Biakan (Turn Around Time)	Waktu antara sampel diterima sampai pelaporan hasil biakan keluar ke pasien	4-8 minggu (media padat) 2-6 minggu (media cair)

(GLI, GLI Practical Guide to TB Laboratory Strengthening, 2017)

Catatan:

- Pencatatan untuk pasien diagnostik dan *follow up* sebaiknya dipisahkan.

- Untuk menjaga mutu laboratorium biakan secara keseluruhan, maka pemeriksaan biakan yang harus dilakukan minimal 20 spesimen per minggu.

Tabel 28. Indikator kinerja utama laboratorium uji kepekaan.

Indikator	Deskripsi	Target
Jumlah dan proporsi Monoresisten, poliresisten dan MDR	Jumlah isolat monoresistan atau poliresistan dan MDR dibagi total jumlah isolat yang diuji	Tergantung pada populasi yang diuji dan negara (prevalensi dan pola resistansi obat)
Jumlah dan proporsi isolat inokulasi DST yang kontaminasi	Jumlah isolat kontaminasi dibagi total isolat diinokulasi untuk DST	< 3 %
Jumlah isolat DST yang tidak dapat diinterpretasikan	Jumlah isolat yang tidak dapat diinterpretasikan dibagi jumlah total dari isolat yang diinokulasi untuk DST	< 3 %
TAT (Turn Around Time)	Total waktu dari sampel diterima sampai pelaporan hasil DST keluar ke pasien	Biakan dan DST Media padat :12 minggu Biakan dan DST Media cair :55 hari 8 minggu
	Total waktu dari isolat sampel diterima sampai pelaporan hasil DST keluar ke pasien(+ Subkultur)	Media padat : 4-6 minggu Media Cair : 2-3 minggu

(GLI, GLI Practical Guide to TB Laboratory Strengthening, 2017)

c. Pola Resistansi Obat Tuberkulosis

Untuk pencapaian akses universal terhadap diagnosis dan pengobatan TBC resistan obat, maka diperlukan penguatan informasi kesehatan dan sistem pengawasan untuk kepastian deteksi dan pemantauan profil epidemiologi TBC resistan obat secara ekstensif serta memantau pencapaian dalam pencegahan dan pengendaliannya. Sistem surveilans berdasarkan pemeriksaan uji kepekaan fenotipik (DST) rutin dari semua kasus TBC dapat memberikan informasi terus menerus tentang pola resistansi obat dari kelompok pasien. Selain itu, informasi ini mampu mendeteksi tren secara akurat dari waktu ke waktu dan kejadian wabah lokal.

Perkiraan setengah dari negara yang melaporkan data ke WHO memiliki sistem pengawasan terhadap laboratorium yang terstandarisasi secara terus-menerus, upaya ini dapat memberikan data DST rutin dari sebagian besar kasus TBC. Sistem pengawasan ini biasanya ditemukan di negara dengan penduduk tinggi karena perlu sumber daya cukup untuk memelihara sistem ini. Hasil DST juga digunakan sebagai dasar manajemen klinis TBC dalam menentukan paduan pengobatan TBC RO.

Apabila kapasitas saat ini tidak dapat menyediakan hasil DST secara sistematis terhadap semua pasien TBC, sistem harus memprioritaskan pemeriksaan uji kepekaan terhadap pasien TBC resistan obat. Survei kepekaan obat secara berkala harus dilakukan setiap lima tahun.

Untuk kepentingan analisis pola resistansi obat, laboratorium harus memiliki tabel yang menggambarkan proporsi resistansi pada pasien baru maupun pasien dengan riwayat pengobatan sebelumnya. Selain itu pola resistansi terhadap obat tunggal dan berbagai kombinasi obat (misalnya TBC MDR, TBC pre-XDR dan TBC XDR).

Tabel 29. Format Tabel Prevalensi Pola Resistansi Obat Tuberkulosis

	N (jumlah)	%
MULTI DRUG RESISTANCE		
MDR / TBC RR (data DST atau data TCM)		
MONORESISTAN		
INH (Isoniazid) konsentrasi rendah		
INH (Isoniazid) konsentrasi tinggi		
MFx (Moxifloxacin) konsentrasi rendah		
MFx (Moxifloxacin) konsentrasi tinggi		
LFX (Levofloxacin)		
BDQ (Bedaquiline)		
LZD (Linezolid)		
CFZ (Clofazimine)		
E (Ethambutol)		
DLM (Delamanid)		
PZA (Pyrazinamide)		
AMK (Amikacin)		
S (Streptomycin)		
KAN (Kanamycin)		
CAP (Capreomycin)		
pre XDR		
MDR / TBC RR + LFX		
MDR / TBC RR + MFx		
XDR		
MDR / TBC RR + LFX/MFx + BDQ		
MDR / TBC RR + LFX/MFx + LZD		
MDR / TBC RR + LFX/MFx + BDQ + LZD		

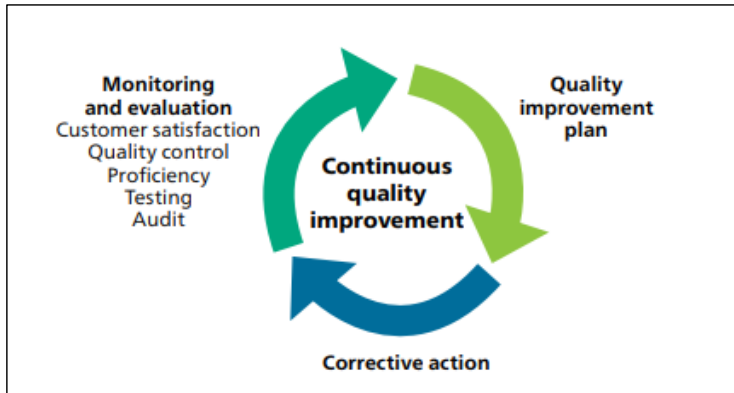
Definisi/Istilah:

Mono resistant	Resistansi terhadap salah satu jenis OAT
Multidrug resistant (MDR)	Resistansi terhadap isoniazid dan rifampicin, dengan atau tanpa OAT lini pertama yang lain, contoh: resistan HR, HRE, HRES.
Resistan Rifampicin (RR)	Resistansi terhadap rifampicin (dalam bentuk monoresistan, poliresistan, TBC MDR, TBC XDR) yang terdeteksi menggunakan metode fenotipik ataupun genotipik, dengan atau tanpa resistansi terhadap OAT lain.
Pre XDR	MDR / TBC RR disertai resistansi terhadap FQ
XDR	MDR / TBC RR disertai resistansi terhadap FQ dan salah satu obat dari Grup A (levofloxacin atau moxifloxacin, bedaquiline dan linezolid)

d. Peningkatan Mutu

Peningkatan mutu membutuhkan perbaikan yang berkelanjutan dan sering diabaikan dari proses penjaminan mutu. Identifikasi ketidaksesuaian melalui pengumpulan dan analisis data serta pemecahan masalah secara kreatif merupakan komponen kunci untuk proses peningkatan mutu. Ketidaksesuaian dapat diidentifikasi dengan berbagai cara antara lain analisis indikator kinerja, uji profisiensi, audit, dan lain-lain.

Siklus peningkatan mutu secara umum melibatkan 4 (empat) langkah yaitu *Plan* (rencanakan), *Do* (lakukan), *Check* (periksa) dan *Act* (tindak lanjut). Ketidak sesuaian yang telah diidentifikasi harus dilakukan analisis, ditentukan tindakan korektif dan hasil dipantau dari waktu ke waktu. Keempat langkah ini harus dilakukan secara teratur dan kontinu untuk memastikan perbaikan berkelanjutan dalam proses laboratorium. Proses ini masih dianggap sulit oleh sebagian besar laboratorium, tetapi hal ini merupakan bagian penting dari pelaksanaan layanan yang berkualitas. Semua prosedur harus terdefinisi secara jelas sehingga setiap tahap dapat dilakukan dengan baik. Bahkan, tindak lanjut untuk mencegah ketidaksesuaian yang sama terjadi di masa mendatang juga harus dilakukan.



Gambar 17. Perbaikan mutu secara kontinu (WHO, 2011)

8. PENGEMBANGAN LABORATORIUM BIAKAN DAN UJI KEPEKAAN TUBERKULOSIS

Laboratorium dapat berada di fasilitas pemerintah, lembaga universitas, maupun swasta. Laboratorium di fasilitas pelayanan kesehatan pemerintah secara struktur organisasi berada di bawah pembinaan Direktorat Jenderal Pelayanan Kesehatan (Ditjen Yankes) Kementerian Kesehatan. Semua laboratorium diharapkan membantu program pemberantasan penyakit secara umum. Peran laboratorium cukup luas mulai dari skrining, diagnosis, pemantauan dan preventif pada penyakit manusia di masyarakat.

Laboratorium pemerintah maupun swasta, baik berupa laboratorium mandiri maupun laboratorium yang menjadi bagian dari fasilitas pelayanan kesehatan, dapat dikembangkan menjadi laboratorium biakan dan uji kepekaan sesuai standar. Institusi yang dapat menentukan suatu laboratorium menjadi laboratorium biakan/uji kepekaan *M. tbc* sesuai standar adalah Laboratorium Rujukan Nasional Pemeriksaan Biakan dan Uji Kepekaan fenotipik, BBLK Surabaya. Program TBC nasional berkoordinasi dengan Dinas Kesehatan Provinsi untuk pengembangan, standarisasi, dan sertifikasi laboratorium biakan serta uji kepekaan TBC yang belum masuk dalam jejaring laboratorium TBC nasional.

Pengembangan laboratorium uji kepekaan TBC merupakan lanjutan dari laboratorium biakan TBC yang sudah melalui beberapa persyaratan agar dapat membantu Penanggulangan Tuberkulosis Nasional di Indonesia. Laboratorium uji kepekaan TBC yang belum memenuhi persyaratan sertifikasi tidak akan direkomendasikan oleh Program TBC dan LRN, serta tidak akan masuk dalam jejaring laboratorium TBC nasional. Pemantauan laboratorium tersebut oleh Dinas Kesehatan Provinsi/Kabupaten setempat (P2P dan Yankes), serta dapat dilaporkan kepada P2TB dan diketahui LRN biakan dan uji kepekaan TBC.

Pengaturan jejaring laboratorium biakan dan uji kepekaan dilakukan oleh Kementerian Kesehatan RI. Bagi provinsi yang memiliki lebih dari 1 (satu) laboratorium biakan/uji kepekaan dapat mengatur jejaring rujukan pemeriksaan biakan/uji kepekaan di provinsi masing-masing. Pada tahun 2021, terdapat 22 laboratorium biakan sesuai standar. Data terkini hasil panel tahun 2020 menunjukkan bahwa jumlah laboratorium uji kepekaan TBC di Indonesia yang sudah lulus atau tersertifikasi oleh LRN Biakan dan Uji Kepekaan TBC sebanyak 13 laboratorium. Bersama dengan LRN biakan dan uji kepekaan TBC telah tersertifikasi oleh laboratorium supranasional IMVS Adelaide, maka total laboratorium uji kepekaan Tuberkulosis adalah 14 laboratorium.

Pengembangan laboratorium tidak terlepas dari dukungan semua pihak yang terkait. Laboratorium dapat dikembangkan untuk dapat melakukan berbagai jenis pemeriksaan sesuai dengan kebutuhan maupun perencanaan masing-masing. Beberapa hal yang harus dipertimbangkan dalam pengembangan laboratorium biakan dan uji kepekaan adalah sebagai berikut:

a. Sarana dan Prasarana Laboratorium

Laboratorium biakan dan uji kepekaan TBC memerlukan sarana dan prasarana sesuai standar yang direkomendasikan WHO (2012). Laboratorium membutuhkan perawatan secara periodik serta sertifikasi oleh lembaga atau instansi yang berwenang atau sesuai rekomendasi pusat. Daftar peralatan yang dibutuhkan dapat mengacu kepada peralatan yang terdapat di lampiran 1.

Semua peralatan laboratorium biakan dan uji kepekaan TBC disesuaikan dengan penerapan metode standar yang direkomendasi LRN Biakan dan Uji Kepekaan TBC. Bagian pengadaan alat harus mengikuti prosedur yang berlaku, selanjutnya semua alat harus di uji fungsi sebelum dipakai untuk pelayanan pemeriksaan. Beberapa dokumen terkait seperti prosedur manual dan intruksi kerja harus tersedia untuk pengoperasian alat, pemeliharaan dan pemantauan alat, kalibrasi serta bukti kegiatan harian/mingguan/bulanan sesuai jenis peralatannya.

Laboratorium rujukan biakan dan uji kepekaan TBC seharusnya mempunyai SDM yang bisa memantau secara rutin sarana dan prasarana laboratorium agar dapat menjaga pelayanan dengan baik. Kegiatan pemeliharaan peralatan yang selalu dilakukan secara rutin, dan kegiatan penjamin peralatan berupa pengujian/kalibrasi serta kegiatan pemantauan fungsi peralatan yang rutin akan menjaga kondisi sarana prasarana dengan baik, yang berarti sistem mutu peralatan selalu terjaga atau terjamin mutunya.

b. Standarisasi Laboratorium Biakan TBC di Indonesia

Suatu laboratorium dapat dinyatakan sebagai laboratorium biakan TBC yang terstandar apabila memenuhi persyaratan yang telah ditentukan secara nasional. Terdapat 10 indikator penilaian yang akan menilai aspek manajerial dan teknis, dengan skor minimal untuk masing-masing indikator sesuai ketentuan dari LRN. Nilai dari masing-masing indikator adalah 1 (kurang), 2 (sedang/ cukup) dan 3 (baik). **Apabila skor minimal belum terpenuhi pada salah satu indikator, maka laboratorium biakan TBC tersebut dinilai belum memenuhi standar nasional**, walaupun ada indikator lain yang nilai skornya cukup atau baik dan laboratorium tersebut belum direkomendasikan untuk melakukan pemeriksaan biakan.

Adapun 10 (sepuluh) indikator penilaian laboratorium biakan TBC adalah sebagai berikut:

- 1) Komitmen (10%), skor minimal 2
- 2) Infrastruktur (10%), skor minimal 2
- 3) Sumber daya manusia (SDM) (10%), skor minimal 2
- 4) Metode (10%), skor minimal 2

- 5) Sarana-prasarana, termasuk Keamanan dan Keselamatan Kerja K3 (10%), skor minimal 2
- 6) Reagen – bahan habis pakai (BHP) (10%), skor minimal 2
- 7) Dana (5%), skor minimal 1
- 8) Pemantapan Mutu Internal (PMI) (15%), skor minimal 3
- 9) Pemantapan Mutu Eksternal (PME) (10 %), skor minimal 2
- 10) Indikator Kinerja Utama (IKU) (10%), skor minimal 2

Secara lebih detail, komponen penilaian laboratorium biakan TBC dapat dilihat pada lampiran 9. Penilaian laboratorium biakan dengan daftar tilik sesuai lampiran 9 dilakukan bagi calon laboratorium biakan maupun laboratorium biakan yang melakukan pergantian metode.

c. Sertifikasi Laboratorium Uji Kepekaan TBC

Sertifikasi laboratorium secara umum adalah proses penilaian mutu suatu laboratorium yang dilaksanakan secara periodik setiap tahun. Laboratorium uji kepekaan yang digunakan dalam Program TBC adalah laboratorium yang tersertifikasi oleh LRN. Sertifikasi laboratorium uji kepekaan TBC dilakukan oleh LRN BBLK Surabaya melalui pengiriman tes panel sejak tahun 2015. Setiap tahun, LRN BBLK Surabaya juga disertifikasi oleh LRS.

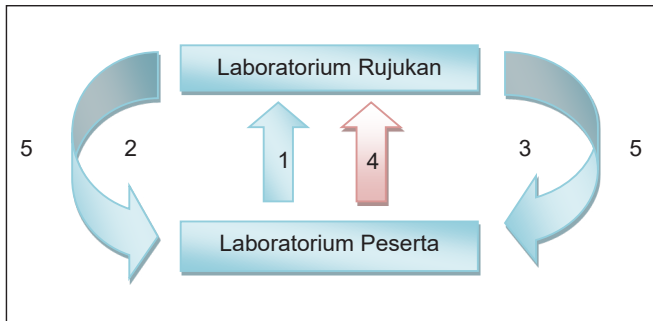
Pengembangan laboratorium uji kepekaan telah direncanakan oleh Program TBC bersama dengan LRN berdasarkan perkiraan beban kasus TBC, pertimbangan administratif maupun geografis. Laboratorium juga dapat mengikuti tahapan pengembangan sebagai laboratorium uji kepekaan secara mandiri.

- 1) Tahapan Mengikuti Sertifikasi Laboratorium Uji Kepekaan TBC
 - a) Laboratorium mengajukan permohonan untuk dilakukan sertifikasi sebagai laboratorium uji kepekaan kepada LRN dengan tembusan kepada Unit Kementerian Kesehatan RI yang mempunyai tupoksi pembinaan laboratorium TBC. Pengajuan ini dapat dilakukan secara mandiri oleh laboratorium.
 - b) LRN akan melakukan penilaian menggunakan daftar tilik penilaian persiapan sertifikasi (lihat lampiran 10)
 - c) Bila sudah memenuhi persyaratan sebagai peserta, maka tahapan mengikuti PME uji kepekaan TBC:
 - (1) Registrasi partisipasi PME
 - (2) Pengiriman isolat panel
 - (3) Pengujian isolat panel
 - (4) Pengiriman laporan hasil uji oleh peserta PME
 - (5) Umpan balik hasil uji oleh LRN
 - d) Mulai tahun 2019, laboratorium peserta PME uji kepekaan akan mendapat 20 isolat panel uji kepekaan yang berasal dari Laboratorium Rujukan Supranasional (IMVS Australia) untuk diuji dengan obat

paket terstandar memakai metode yang ada di laboratorium peserta PME. Pengujian panel dilaksanakan oleh petugas teknis yang rutin melakukan pemeriksaan.

- e) LRN akan mengevaluasi hasil panel serta memberi sertifikat pada laboratorium yang lulus, sedangkan bagi yang belum lulus akan mengikuti panel pada tahun berikutnya.
- f) Hasil evaluasi semua peserta PME uji kepekaan akan dikirim kepada subdit TBC.

Secara singkat tahapan sertifikasi panel uji kepekaan *M. tbc* dapat dilihat pada gambar di bawah ini:



Gambar 18. Tahapan sertifikasi panel uji kepekaan *M. tbc*

Keterangan:

- (1) Surat permohonan atau jawaban kesediaan mengikuti uji panel.
 - (2) Asesmen dan supervisi oleh LRN ke laboratorium calon peserta menggunakan daftar tilik asesmen untuk persiapan sertifikasi.
 - (3) Pengiriman isolat panel uji kepekaan *M. tbc*.
 - (4) Laporan hasil pemeriksaan panel uji kepekaan *M. tbc* oleh peserta panel PME dilakukan maksimal 6 (enam) bulan termasuk pengulangannya setelah tanggal penerimaan isolat panel di laboratorium peserta panel. Apabila melebihi batas waktu, hasil panel peserta tidak akan dievaluasi.
 - (5) LRN memberi sertifikat keikutsertaan dan hasil evaluasi kelulusan kepada peserta panel dalam waktu maksimal 1 (satu) bulan setelah pengiriman hasil dari semua peserta panel terkumpul.
- 2) Analisis Laporan Hasil Panel Uji Kepekaan
Hasil uji panel dari peserta akan dianalisis sesuai 5 indikator kinerja, sebagai berikut:
 - a) Sensitivitas
Kapasitas pengujian untuk mengidentifikasi bahwa isolat tersebut benar-benar resistan (*true resistance*).
 - b) Spesifisitas

Kapasitas pengujian untuk mengidentifikasi bahwa isolat tersebut benar-benar suseptibel (*true susceptible*).

- c) *Predictive Value – resistance*
Probabilitas isolat yang benar-benar resistan di antara isolat yang teridentifikasi sebagai resistan.
- d) *Predictive Value- susceptible*
Probabilitas isolat yang benar-benar suseptibel di antara isolat yang teridentifikasi sebagai suseptibel.
- e) Akurasi
Proporsi ketepatan pengujian.

3) Kelulusan

Penetapan kelulusan sesuai dengan ketentuan berikut, yaitu:

- a) Hasil uji kepekaan *M. tbc* semua obat sesuai.
- b) Maksimum hanya boleh ada satu hasil diskrepansi pada setiap obat SDP 2020 (isoniazid, Moksifloxacin, Capreomycin, Amikacin, Kanamycin, dan Pyrazinamide). Penggunaan OAT SDP menyesuaikan dengan kebutuhan dalam P2TB.

4) Tindak Lanjut Hasil

- a) Pengiriman sertifikat
Sertifikat keikutsertaan dan hasil evaluasi diberikan kepada semua peserta uji panel dalam periode tahun berjalan. Pengiriman dilakukan secara elektronik melalui email (*softcopy*) dan *hardcopy* akan dikirimkan melalui jasa ekspedisi.
- b) Supervisi dan/atau Bimbingan Teknis
Supervisi dilaksanakan oleh laboratorium rujukan nasional (LRN) kepada laboratorium yang tidak lulus uji panel untuk mendapatkan bimbingan teknis. Hal tersebut dilakukan dengan mengidentifikasi permasalahan dan memberikan rekomendasi untuk peningkatan mutu pada periode panel tahun berikutnya.
Kegiatan Paska Supervisi :
 - a. Supervisor membuat laporan hasil supervisi.
 - b. Memberikan umpan balik dan rekomendasi pada petugas laboratorium.
 - c. Laboratorium yang disupervisi memberikan laporan hasil pelaksanaan rencana tindak lanjut (RTL) kepada LRN.
 - d. LRN memberikan rekap laporan pelaksanaan dan rencana tindak lanjut (RTL) hasil supervisi dan bimbingan teknis kepada P2TB.

d. Identifikasi Masalah dan Tindakan Korektif (*Troubleshooting*)

Berikut adalah beberapa permasalahan yang dapat ditemukan pada proses sertifikasi uji kepekaan *M. tbc*, yaitu:

1. Tingkat kontaminasi yang tinggi

Laboratorium yang mengalami tingkat kontaminasi yang tinggi dapat melakukan tindakan korektif sebagai berikut:

- Menelusuri masalah dengan memastikan apakah prosedur kinerja setiap pemeriksaan sudah sesuai SPO termasuk preparasi spesimen, penggunaan reagen, dan peralatan.
- Mereview apakah proses dekontaminasi dan konsentrasi dari reagen NaOH apakah sudah sesuai.
- Pemantauan jumlah kontaminasi pada biakan atau uji kepekaan

2. Gagal pada persiapan sertifikasi laboratorium

Laboratorium yang tidak memenuhi persyaratan sertifikasi uji kepekaan pada tahap persiapan, dapat melakukan tindakan korektif sebagai berikut:

- Menindaklanjuti temuan saat sertifikasi
- Menyiapkan perbaikan sarana dan prasarana yang sesuai standar.
- Mengulang kembali sertifikasi setelah melakukan tindak lanjut dari hasil temuan

3. Hasil panel tidak lulus

Laboratorium yang telah mengikuti sertifikasi uji kepekaan dapat dinyatakan lulus pada kesempatan pertama atau melakukan pengulangan. Beberapa tindakan korektif yang dapat dilakukan pada laboratorium yang tidak lulus adalah:

- Penelusuran masalah dengan memastikan apakah prosedur kinerja setiap pemeriksaan sudah sesuai SPO penggunaan reagen dan peralatan
- Penimbangan pembuatan *stock solution* obat sudah dikalikan dengan nilai faktor koreksi sesuai dengan informasi kemurnian masing-masing obat
- Pembuatan *working solution* sudahkah sesuai SPO
- Penyimpanan obat tidak sesuai standar
- Pemantauan pada kualitas kuman kontrol saat melakukan uji kepekaan apakah sudah sesuai dengan nilai rujukannya
- Petugas sudah mendapatkan pelatihan atau *On Job Training*
- Melakukan uji kepekaan secara duplo, untuk melihat reproduibilitas

Apabila laboratorium tetap tidak lulus setelah dilakukan pengulangan, maka laboratorium dinyatakan tidak lulus namun tetap mendapatkan sertifikat keikutsertaan.

e. Tantangan Pengembangan Laboratorium Biakan dan Uji Kepekaan TBC

Internal	Eksternal
<p>SDM</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Implementasi komitmen dari jajaran manajemen dan teknis 2) Belum optimal dalam tata kelola SDM menggunakan Analisis Beban Kerja 3) Peningkatan kompetensi SDM melalui pelatihan belum optimal 4) Adanya rotasi/mutasi SDM di laboratorium TBC 5) Efektifitas koordinasi dari manajemen maupun pelaksana 	<p>SDM</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Kebutuhan SDM Prov/Kab/Kota membutuhkan koordinasi dengan BKD 2) Jumlah dan kualifikasi SDM sesuai standar kebutuhan laboratorium 3) Dukungan manajemen dalam tata kelola SDM yang sudah terlatih TBC (penempatan/mutasi/rotasi) 4) Manajemen memiliki program SDM secara berkala seperti pelatihan SDM dan manajemen. 5) Kerjasama dan koordinasi dengan Dinas Kesehatan setempat
<p>Infrastruktur</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Dukungan manajemen dalam membuat laboratorium yang sesuai dengan standar, meliputi perencanaan, pelaksanaan, evaluasi dan pemeliharaan. 2) Keterbatasan informasi/konsultasi tentang standar laboratorium biakan dan uji kepekaan 3) Kebutuhan tenaga teknis pemeliharaan infrastruktur laboratorium 4) Belum tersedia pedoman nasional tentang infrastruktur laboratorium biakan dan uji kepekaan 	<p>Infrastruktur</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Belum tersedianya lembaga sertifikasi laboratorium biakan dan uji kepekaan di tingkat nasional 2) Belum tersosialisasinya desain dan fungsi infrastruktur laboratorium biakan dan uji kepekaan TBC kepada pemangku kebijakan. 3) Sampai saat ini konsultan pengembangan laboratorium biakan dan uji kepekaan TBC baru tersedia dari pihak luar (swasta) 4) Sulitnya mendapatkan kontraktor dalam membangun laboratorium biakan dan uji kepekaan TBC
<p>Metode</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Penerapan SPO sesuai dengan standar nasional yang direkomendasikan 2) Pelaksanaan Pemantapan Mutu Internal (PMI) sesuai standar dan terdokumentasi dengan tertib. 3) Pelaksanaan metode biakan dan uji kepekaan sesuai standar yang disepakati oleh manajemen dan pelaksana di laboratorium. 	<p>Metode</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Pelaksanaan Pemantapan Mutu Eksternal (PME) yang belum berjalan dengan optimal 2) Keberlangsungan ketersediaan bahan habis pakai dari distributor/<i>principle</i> di Indonesia 3) Pedoman internasional yang mengalami pembaharuan terlalu cepat terhadap metode yang sudah diadaptasi di Indonesia
<p>Sarana dan prasarana</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Perencanaan pengadaan peralatan laboratorium TBC dievaluasi minimal 1 tahun sekali 	<p>Sarana dan prasana</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Tidak tersedia vendor lokal untuk melakukan pemeliharaan dan kalibrasi alat

<p>dan disesuaikan dengan spesifikasi yang direkomendasikan</p> <ol style="list-style-type: none"> 2) Pemeliharaan melalui <i>contract service</i> setelah pengadaan dan didokumentasikan 3) Penjadwalan dan pelaksanaan kalibrasi minimal 1 tahun sekali oleh lembaga yang tersertifikasi 	<ol style="list-style-type: none"> 2) Keterbatasan ketersediaan alat dan reagen laboratorium biakan dan uji kepekaan TBC di e-katalog 3) Belum ada sistem Kerja Sama Operasional (KSO) di laboratorium biakan dan uji kepekaan TBC
<p>Dana</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Pemberian <i>reward</i> kepada pelaksana yang aktif dan produktif dengan kinerja yang baik/sangat baik 2) Perencanaan dana untuk tata kelola laboratorium dilakukan secara mandiri dan berkesinambungan 	<p>Dana</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Program pengobatan TBC ada yang tidak ter-<i>cover</i> dalam sistem JKN 2) Pendanaan dari badan-badan internasional akan diefisiensikan
<p>Mutu dan akses pelayanan</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Laboratorium menjamin pelaksanaan mutu dan akreditasi laboratorium 2) Laboratorium mampu mengembangkan dan meningkatkan kinerja pelayanan kepada masyarakat yang membutuhkan 	<p>Mutu dan akses pelayanan</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Laboratorium mengikuti PME dan akreditasi secara aktif dan mandiri 2. Berperan serta secara aktif dalam melaksanakan program TBC sesuai dengan jejaring yang diatur 3. Berkoordinasi dengan Dinas Kesehatan Kab/Kota dan Provinsi dalam peningkatan mutu dan pelayanan laboratorium TBC.

9. PENCATATAN DAN PELAPORAN

Pencatatan dan pelaporan pemeriksaan laboratorium TBC wajib dilakukan oleh semua fasilitas pelayanan kesehatan yang melakukan pemeriksaan laboratorium TBC. Mulai tahun 2020, semua pemeriksaan laboratorium TBC wajib tercatat dan dilaporkan secara terpadu melalui Sistem Informasi Tuberkulosis (SITB) termasuk penginputan data hasil pemeriksaan laboratorium. Pencatatan dan pelaporan pada eTB manager hanya diperbolehkan untuk pemeriksaan *follow up* pasien TB RO sampai akhir tahun 2021 (selama masa transisi penggunaan eTB manager ke SITB). Pemeriksaan biakan dan uji kepekaan TB dicatat dan dilaporkan menggunakan format standar secara manual dan juga dilakukan input pada SITB setiap tersedia hasil pemeriksaan laboratorium. Laboratorium rujukan hanya akan memeriksa spesimen dari pasien yang tercatat di SITB. Apabila data pasien tidak diinput dalam SITB dalam waktu 7 (tujuh) hari sejak spesimen diterima, maka pemeriksaan laboratorium tidak dapat dilakukan. Hasil pemeriksaan mikrokopis untuk pemantauan pasien TBC RO, wajib tercatat di SITB/eTB Manager paling lambat 3 (tiga) hari sejak spesimen diterima oleh laboratorium.

Formulir pencatatan dan pelaporan terkait pemeriksaan laboratorium TBC terdiri atas formulir TBC-06, TBC-05, TBC-04, dan formulir TBC-12. Namun, format pencatatan dan pelaporan wajib yang digunakan oleh petugas laboratorium TBC adalah formulir TBC-05 dan rekapitulasi TBC-04. Formulir TBC-12 digunakan untuk pemantapan mutu uji silang di laboratorium mikroskopis TBC.

a. Jenis Formulir TBC untuk Pemeriksaan Laboratorium TBC

Sistem pencatatan dan pelaporan untuk pemeriksaan biakan dan uji kepekaan TBC menggunakan beberapa formulir di bawah ini:

- 1) Formulir TBC-06** merupakan daftar terduga TBC yang terletak di poli (Poli TBC/TBC RO, poli TB-HIV dan poli lainnya). Formulir tersebut berisi data pasien dan diisi oleh petugas poli (Lampiran 11).
- 2) Formulir TBC-05** merupakan formulir permohonan pemeriksaan bakteriologis TBC. Formulir ini merupakan formulir pengantar yang diisi oleh petugas poli apabila ingin memeriksakan spesimen terduga/pasien TBC ke laboratorium. Setelah didapatkan hasil pemeriksaan, maka petugas laboratorium harus mengisi hasil di TBC-05 dan mengirimkan kembali formulir TBC-05 ke poli/fasyankes perujuk. Untuk fasyankes yang telah menggunakan SITB maka formulir TBC-05 dapat langsung di *download* melalui SITB secara *realtime*. Selain itu, hasil pemeriksaan laboratorium yang telah diinput di SITB otomatis dapat terinput pada TBC-05 SITB (Lampiran 12).

3) Formulir TBC-04 Formulir TBC-04 terletak di laboratorium dan berisi hasil dari setiap pemeriksaan TBC yang diisi oleh petugas laboratorium (Lampiran 13). Laporan register TBC-04 ini juga telah tersedia di SITB dalam bentuk rekapan. Formulir register TBC-04 manual yang terdiri atas 2 format, yaitu:

- a) Register Laboratorium TBC-04 untuk Fasyankes Mikroskopis dan Xpert (TCM).
 - Pada pencatatan dan pelaporan secara manual TBC-04 digunakan untuk mencatat rekapan hasil pemeriksaan mikroskopis dan TCM (baik yang berasal dari rujukan spesimen internal atau eksternal).
 - Pada pencatatan dan pelaporan secara elektronik (SITB), TBC-04 merupakan rekapan data hasil pemeriksaan yang berasal dari rujukan pemeriksaan internal (spesimen berasal dari internal fasyankes pemeriksa). Format laporan register TBC-04 di SITB sama dengan TBC-04 untuk pemeriksaan rujukan tes cepat, biakan, dan uji kepekaan.
- b) Register Laboratorium TBC-04 untuk Rujukan Tes Cepat, Biakan, dan Uji Kepekaan.
 - Pada pencatatan dan pelaporan secara manual TBC-04 digunakan untuk mencatat rekapan hasil pemeriksaan mikroskopis, TCM, biakan, dan uji kepekaan (baik yang berasal dari rujukan spesimen internal atau eksternal). Register TBC-04 ini biasanya digunakan untuk laboratorium biakan dan uji kepekaan TBC.
 - Pada pencatatan dan pelaporan secara elektronik (SITB), TBC-04 rujukan (TCM, biakan dan uji kepekaan) ini merupakan rekapan data hasil pemeriksaan yang berasal dari rujukan pemeriksaan eksternal (spesimen berasal dari luar fasyankes pemeriksa).

b. Pencatatan dan Pelaporan Indikator Kinerja Utama (IKU) Lab Biakan Tuberkulosis

Laporan Indikator Kinerja Utama (IKU) Lab Biakan TBC adalah *tools* pelaporan sekaligus analisis data pemeriksaan biakan TBC berbasis excel untuk laboratorium biakan TBC. Pelaporan IKU tersebut dilakukan per triwulan dan dikirimkan ke email LRN biakan dan uji kepekaan bblksubtb@yahoo.co.id cc timlab.subditb@gmail.com bulan terakhir triwulan berikutnya (ct. sampel pemeriksaan biakan pada bulan Jan-Maret akan dilaporkan pada minggu pertama bulan Juni) (Lampiran 14). Selanjutnya, untuk fitur penginputan pelaporan IKU laboratorium biakan TBC ini direncanakan akan dikembangkan dalam SITB.

c. Hal-hal yang harus diperhatikan dalam Pencatatan Pelaporan Pemeriksaan Biakan dan Uji Kepekaan TBC

- 1) Petugas laboratorium wajib melakukan pengecekan permohonan pemeriksaan laboratorium di SITB. Data terduga dan permohonan laboratorium harus tercatat di SITB sehingga hasil laboratorium dapat diinput di SITB. Apabila data pasien tidak diregister pada SITB dalam

waktu 7 (tujuh) hari sejak spesimen diterima di laboratorium, maka pemeriksaan tidak akan dilakukan. Hasil pemeriksaan laboratorium yang tidak tercatat di SITB dapat mempengaruhi data rekapitulasi pemeriksaan laboratorium yang bisa dibayarkan saat proses pengajuan klaim melalui SITB.

2) Periksa kelengkapan isian formulir TBC-05 dan TBC-04

Petugas laboratorium wajib memeriksa kelengkapan pengisian formulir TBC-05 yang dilampirkan saat pengiriman spesimen maupun pada SITB. Jika terdapat kekurangan data pengisian, maka petugas wajib mengkonfirmasi kepada pihak pengirim.

Pemeriksaan laboratorium TBC dilakukan sesuai dengan algoritma yang berlaku dalam P2TB.

Setelah dilakukan konfirmasi penerimaan spesimen dan dapat dilakukan pemeriksaan laboratorium, maka petugas laboratorium menginput data hasil pemeriksaan pada SITB dan register TBC-04 manual.

Jika fasyankes pengirim telah menggunakan SITB untuk permohonan laboratorium, maka ketika petugas laboratorium menginput data hasil laboratorium akan otomatis masuk ke dalam formulir TBC-05 SITB sesuai dengan jenis pemeriksaan yang diminta. Formulir TBC-05 yang belum dan telah berisikan hasil laboratorium tersebut dapat di *download* di SITB secara *realtime* baik dari fasyankes pengirim atau laboratorium.

3) Pada pasien TBC RO jenis pemeriksaan LPA lini 2/biakan/uji kepekaan dilakukan 1 paket dengan pemeriksaan mikroskopis BTA. Oleh karena itu, penginputan pemeriksaan mikroskopis BTA untuk pemantauan pengobatan pasien TBC RO tetap dilakukan dan diinput di SITB oleh petugas laboratorium rujukan untuk jenis permohonan pemeriksaan LPA lini 2/biakan/uji kepekaan.

d. Tahapan Pengisian Hasil Pemeriksaan Biakan dan Uji Kepekaan di SITB

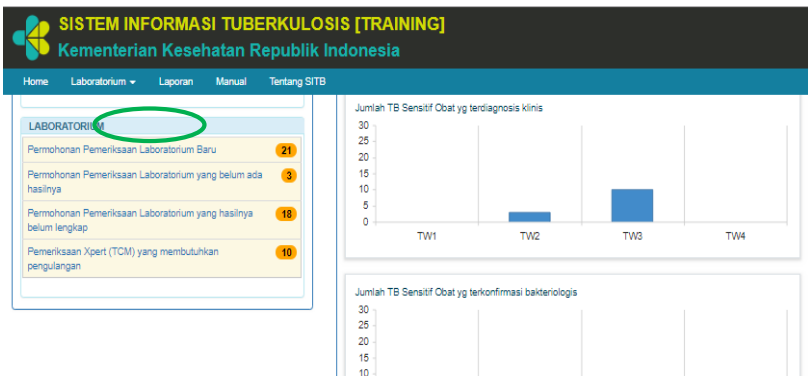
Langkah-langkah pengisian hasil pemeriksaan biakan dan uji kepekaan pada SITB adalah sebagai berikut:

- Petugas laboratorium hanya dapat menginput hasil pemeriksaan mikroskopis TB, jika ada permohonan pemeriksaan laboratorium. Sebelumnya fasyankes pengirim harus melakukan input data terduga / pasien dalam SITB dan membuat permohonan pemeriksaan laboratorium. Secara rinci cara penginputan data hasil pemeriksaan laboratorium (biakan/uji kepekaan) dapat dilihat pada Petunjuk Teknis SITB.
- Khusus untuk penginputan data hasil pemeriksaan mikroskopis untuk pasien TBC RO, maka permohonan laboratoriumnya menggunakan jenis

pemeriksaan LPA/biakan/uji kepekaan. Ketika fasyankes pengirim membuat permohonan pemeriksaan LPA/biakan/uji kepekaan. Otomatis pada penginputan hasil mikroskopis TBC akan terbuka dan dapat dilakukan *entry* hasil laboratorium.

- Pemeriksaan mikroskopis TBC dapat dilakukan untuk diagnosis pada terduga TBC SO yang tidak mempunyai akses pemeriksaan TCM, dan *follow up* untuk pasien TB SO. Sedangkan pada pasien TBC RO pemeriksaan mikroskopis dilakukan 1 (satu) paket bersama dengan pemeriksaan LPA/biakan/uji kepekaan pada pasien TB RO baik untuk alasan pemeriksaan diagnosis atau *follow up*. Penegakan diagnosis pasien TBC RO wajib dilakukan dengan pemeriksaan TCM/biakan/uji kepekaan (disesuaikan dengan algoritma dan ketentuan dalam Permenkes 67 tahun 2016, serta SE Dirjen P2P No.HK.02.02/III.1/936/2021 tentang Perubahan Alur Diagnosis dan Pengobatan Tuberkulosis di Indonesia).
- Penginputan hasil pemeriksaan laboratorium TBC (TCM/mikroskopis/biakan/uji kepekaan/LPA lini dua) pada SITB, dapat dilakukan dengan 2 (dua) cara yaitu melalui:

1) Notifikasi / alert & reminder bagian laboratorium



Pada bagian notifikasi / alert & reminder laboratorium ada beberapa notifikasi yang digunakan untuk melakukan input pemeriksaan laboratorium (LPA Lini Dua) yaitu:

- 1) Permohonan pemeriksaan laboratorium baru
- 2) Permohonan pemeriksaan laboratorium yang belum ada hasilnya
- 3) Permohonan pemeriksaan laboratorium yang hasilnya belum lengkap

Catatan:

- ❖ Permohonan laboratorium TBC untuk rujukan pemeriksaan eksternal ada perubahan dan perbaikan tampilan di versi SITB saat ini. Permohonan pemeriksaan laboratorium eksternal adalah pemeriksaan laboratorium yang dilakukan bukan di fasyankes yang melakukan permohonan laboratorium, namun pemeriksaan lab

dilakukan di fasyankes lainnya (rujukan eksternal). Contoh, fasyankes A melakukan permohonan pemeriksaan lab TCM kepada fasyankes B. Fasyankes B ini yang akan melakukan pemeriksaan lab TCM.

- ❖ Khusus untuk permohonan rujukan pemeriksaan eksternal, maka fasyankes pengirim harus terlebih dahulu melakukan konfirmasi pengiriman contoh uji setelah melakukan penyimpanan permohonan permintaan pemeriksaan laboratorium di SITB. Fasyankes pengirim yang membuat permohonan pemeriksaan lab di SITB **harus** melakukan konfirmasi pengiriman dengan cara menekan/klik tombol “**konfirmasi pengiriman contoh uji**” (lambang pesawat kertas), kemudian mengisi variabel meliputi tanggal pengambilan contoh uji, tanggal pengiriman contoh uji, jenis pengiriman (Sitrust atau Non Sitrust), serta jasa pengiriman yang digunakan. Saat melakukan konfirmasi pengiriman contoh uji pastikan bahwa contoh uji yang akan dikirim/dirujuk ke fasyankes pemeriksa (eksternal) sudah tersedia dan siap untuk dikirimkan.

Edit Permohonan Pemeriksaan Bakteriologis TBC

Nama Terdaftar/Pasien TBC	: ANIS	Alamat	: Jl. Haurip	Nama Fasyankes	: RSUD Perakabupaten
NK/No. Identitas	: 898772205104000	Kabupaten/Kota	: Kota Jakarta Pusat	Kode Fasyankes	: 3172013
Nomor BPJS	:	Provinsi	: DKI Jakarta	Tanggal Register	: 01/10/2020
Jenis Kelamin	: Laki-laki	No. Telepon	: 0218767576	No. Reg. Fasilitas	: 0000
Umur	: 28 tahun 8 bulan			No. Reg. Kap/Kota	: 3172.0007

No. Identitas Sediaan : 20P317303010110066

Jenis Terdaftar / Pasien TBC : Pasien TBC RD

Lokasi Anastesi Penyakit : TBC Paru

Tanggal Permohonan : 02/11/2020

Dokter Pengirim : naf

Keterangan : sedang

Alasan Pemeriksaan : Pemeriksaan Diagnostik

Jenis Pemeriksaan :
- LTA Btu 2
- Paket standar uji keankes

Contoh Uji :
- Jenis Contoh Uji : Dalam

Konfirmasi Pengiriman Contoh Uji

Ketersediaan contoh uji * : Ya

Tanggal Pengambilan Contoh Uji * :

Tanggal Pengiriman Contoh Uji * :

Jenis Pengiriman * :

Jasa Pengiriman * :

Contoh rekapan permohonan Lab yang belum dilakukan konfirmasi pengiriman (permohonan rujukan eksternal).

SISTEM INFORMASI TUBERKULOSIS
Kementerian Kesehatan Republik Indonesia

Home | Logout | **Laboratorium** | Laporan | Admin | Data Pelugas | COVID-19 | Profil Unit TB | Manual | FAQ

Permohonan Pemeriksaan Bakteriologis TBC

Tampilkan Filter

No	Fasyankes	No. Identitas Sediaan	Tanggal Permohonan	Nama Terduga / Pasien TBC	umur	Jenis Kelamin	Alasan Pemeriksaan	Status Pengobatan	Jenis Pemeriksaan	Status Terima	Tanggal Input Terima / konfirmasi penerima	Konfirmasi Pemeriksaan Corech Lip	Informasi Pemeriksaan	Notifikasi	Status Hasil
1	RSUPN Dr. Djoto Mangrovekusumo	20317261	10/12/2020	HUKI BANAMTU RAHANAN	20 th 10 ta	P	Diagnosa TB SO	Belum Mulai Pengobatan	- Xpert (TDM)	Belum					Belum Ada
2	RS Paru Dr. M. Gemanwan Partowidigdo	20320152	10/12/2020	ECONG	44 th 4 ta	L	Pemeriksaan Diagnosis Baseline		- LPA Ivi 2 - Paket stand up kepekaan	Belum					Belum Ada
3	RS Umum Daerah dr. Dago Praswanegara	20360491	10/12/2020	RUHYAH	65 th 2 ta	P	Follow Up Bulan ke 10		- Biakan	Belum					Belum Ada
4	RS Umum Daerah Tanggar Selatan	20367403	10/12/2020	selhan	44 th 7 ta	L	Follow Up Bulan ke 6		- Biakan	Belum					Belum Ada
5	RS Umum Daerah Tanggar Selatan	20367120	10/12/2020	ari hanyanto	53 th 9 ta	L	Follow Up Bulan ke 6		- Biakan	Belum					Belum Ada

Pada pemeriksaan laboratorium rujukan eksternal jika belum ada konfirmasi pengiriman maka di laboratorium penerima tidak / belum muncul tanda untuk pengisian konfirmasi penerimaan atau input hasil lab

SISTEM INFORMASI TUBERKULOSIS
Kementerian Kesehatan Republik Indonesia

Home | Kasus | Logout | **Laboratorium** | **Etiker** | Laporan | Admin | Data Pelugas | COVID-19 | Manual | Tentang SITB | FAQ

Permohonan Pemeriksaan | **Permohonan Pemeriksaan Laboratorium**

Sembunyikan Filter

Hasil Pemeriksaan Laboratorium

Fasyankes Pemohon:

Provinsi: Kabupaten/Kota: Jenis Fasyankes: Fasyankes: Tanggal Permohonan:

Terduga/Pasien TBC

Jenis Terduga / Pasien TBC: No. Identitas Sediaan: Nama Terduga / Pasien TBC: NIK/No. Identitas:

Jenis Kelamin: Alasan Pemeriksaan:

Laboratorium

Provinsi: DKI Jakarta Kabupaten/Kota: Kota Jakarta Timur Laboratorium: RSUP Persahabatan Status Terima: Status Hasil:

Reset Filter

Menu Permohonan Lab digunakan untuk mencari dan mengisi hasil pemeriksaan laboratorium dari permohonan lab baru, sedangkan menu hasil pemeriksaan laboratorium digunakan untuk mencari dan mengisi permohonan laboratorium yang sudah dilakukan konfirmasi penerimaan spesimen. Pencarian data permohonan laboratorium yang ingin diinput hasil pemeriksaannya dapat dilakukan dengan menggunakan **“tampilan filter”**. Pilih filter yang ingin digunakan untuk pencarian permohonan lab maupun informasi terduga / pasien yang ingin dimasukkan/diinput hasil pemeriksaan yang diinginkan.

- 3) Pilih permohonan laboratorium yang akan dilakukan input hasil pemeriksaan laboratorium TBC (TCM/LPA/biakan/uji kepekaan).

Laboratorium

Provinsi: DKI Jakarta Kabupaten/Kota: Kota Jakarta Timur Laboratorium: RSJUP Persahabatan Status Terima: Status Hasil: Belum Ada

Reset Filter

No	Fasilitas	No Identitas Sediaan	Tanggal Permohonan	Nama Terdaftar / Pasien TBC	umur	Jenis Kelamin	Alamat	Alasan Pemeriksaan	Status Pengobatan	Jenis Pemeriksaan	Status Terima	Tanggal Contoh Uji Diterima / Konfirmasi Penerimaan	Konfirmasi Pemeriksaan Contoh Uji	Informasi Pemeriksaan	Notifikasi	Status Hasil
1	RSJUP Persahabatan	201917201	21/04/2020	Panggih Rayhan Rashid	22 th 3 bl	L	JL. MATRAWAN LUAR NO 10 RT 4/3	Diagnosa TB RO	Belum Mulai Pengobatan	- LPA ml 2 - Paket standar uji kepekaan	Belum					Belum Ada
2	RSJUP Persahabatan	201917201	02/04/2020	DWI RHYANTO	62 th 11 bl	L	JL. COKLUR BULAK RT 4/3	Diagnosa TB SO	Belum Mulai Pengobatan	- Mikroskopis - Xpert (TCM)	Sukses	04/04/2020	Bocor	Terminasi siklus biakan		Belum Ada

- 4) Pada bagian input hasil laboratorium, sebelumnya dilakukan konfirmasi kondisi penerimaan spesimen / spesimen di laboratorium. Jika pemeriksaan dapat dilakukan maka dapat dilanjutkan untuk melakukan input hasil pemeriksaan mikroskopis TBC atau hasil lab lainnya.

Setiap permohonan laboratorium di SITB harus dilakukan konfirmasi penerimaan contoh uji (kondisi baik, bocor, pasien tidak datang menyerahkan sampel atau lainnya), serta melakukan konfirmasi apakah pemeriksaan laboratorium dapat dilakukan atau tidak. Konfirmasi penerimaan contoh uji dilakukan oleh petugas laboratorium setelah menerima permohonan laboratorium dan menerima contoh uji yang dikirimkan.

Informasi Detil Permohonan Pemeriksaan Bakteriologi TBC

Tambah Hasil Pemeriksaan Laboratorium

Tanggal Contoh Uji Diterima / Konfirmasi Penerimaan * 24/04/2020

Jenis Contoh Uji Dahak

Konfirmasi Penerimaan Contoh Uji * Baik

Informasi Pemeriksaan * Pemeriksaan dapat dilakukan

Penerima / Pemeriksa Contoh Uji dr. BUDI HARYANTO Sp.MK

Tanggal Register * 24/04/2020

Dokter P.J. Pemeriksa Lab * dr. BUDI HARYANTO Sp.MK

Keterangan

Pemeriksaan visual contoh di Laboratorium

Besuktu	Hemah lender	Berleuk darah	Air liur
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pagi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Informasi Detil Permohonan Pemeriksaan Bakteriologi TBC

Edit Hasil Pemeriksaan Laboratorium

Tanggal Contoh Uji Diterima / Konfirmasi Penerimaan * 24/04/2020

Jenis Contoh Uji Dahak

Konfirmasi Penerimaan Contoh Uji * Kolon Konfirmasi Penerimaan Contoh Uji harus diisi

Informasi Pemeriksaan *

Simpan Batal



Lakukan konfirmasi contoh uji di SITB dengan cara:

- Isi tanggal penerimaan contoh uji
- Isi konfirmasi kondisi contoh uji (baik, bocor, rusak, ataupun jika pasien tidak datang ke lab untuk menyerahkan contoh uji)
- Informasi pemeriksaan (dapat dilakukan atau tidak)
- Penerima/pemeriksa contoh uji
- Tanggal register

Konfirmasi pemeriksaan laboratorium:

- a) Pemeriksaan laboratorium dapat dilakukan
Jika petugas laboratorium memberikan konfirmasi bahwa contoh uji yang dikirimkan dapat dilakukan pemeriksaan laboratorium, maka selanjutnya dapat dilakukan input hasil laboratorium.
- b) Pemeriksaan laboratorium tidak dapat dilakukan
 - Jika petugas laboratorium memberikan konfirmasi bahwa contoh uji yang dikirimkan dalam kondisi rusak/bocor/pasien tidak datang menyerahkan sampel/lainnya, sehingga pemeriksaan laboratorium tidak dapat dilakukan. Maka setelah petugas laboratorium melakukan penyimpanan konfirmasi contoh uji tidak dapat dilakukan pemeriksaan laboratorium otomatis akan ada **notifikasi pada bagian home** dengan tag **“Permohonan Pemeriksaan Lab yang membutuhkan sampel baru”**.
 - Notifikasi ini hanya akan muncul di bagian home untuk user admin/DO dari pihak poli pengirim permohonan pemeriksaan laboratorium.
 - Cari notifikasi tersebut dan sesuaikan dengan permohonan laboratorium apakah berasal dari data terduga / pasien TBC SO / atau pasien TBC RO.
 - **Petugas poli TBC / TBC RO harus melakukan konfirmasi terhadap notifikasi tersebut dengan 2 (dua) cara:**
 - 1) Lakukan konfirmasi dengan memilih tombol **“x” (batalkan permohonan lab)** jika terduga/pasien **tidak dapat** menyediakan dan memberikan sampel / dahak baru untuk dikirimkan.
 - 2) Lakukan konfirmasi dengan memilih tombol **“buat permohonan lab baru”** jika terduga/pasien dapat menyediakan dan memberikan sampel/dahak baru untuk dikirimkan dan dilakukan pemeriksaan lab baru. Otomatis

setelah memilih tombol tersebut maka tampilan akan muncul seperti pada tambah permohonan laboratorium.

- Untuk pasien yang tidak kembali ke laboratorium untuk menyerahkan sampel dalam waktu dalam waktu 2 x 24 jam dari tanggal permohonan lab dibuat, maka pihak laboratorium harus menginformasikan hal tersebut kepada pihak pengirim. Jika memang pasien tidak kembali untuk mengembalikan/menyerahkan dahak sesuai batas waktu yang telah ditentukan, maka pihak petugas laboratorium dapat melakukan konfirmasi penerimaan contoh uji dengan status pemeriksaan tidak dapat dilakukan karena pasien tidak datang untuk menyerahkan sampel. Selanjutnya, petugas poli dapat melakukan konfirmasi permohonan laboratorium tersebut dengan cara pada poin **“b.1) di FAQ penggunaan SITB” untuk menghapus/membatalkan permohonan laboratoriumnya.**

5) Pada bagian hasil pemeriksaan laboratorium, otomatis jenis pemeriksaan akan terbuka sesuai dengan jenis pemeriksaan yang diminta pada permohonan laboratorium. Input hasil pemeriksaan laboratorium (TCM/LPA/biakan/uji kepekaan sesuai dengan data yang diminta dan klik simpan.

* Hasil Pemeriksaan Mikroskopis (B Th(lainnya)*)

* Hasil Pemeriksaan Xpert (TCM)*

* Hasil Pemeriksaan LPA (ini dia)

- Hasil Pemeriksaan Biakan

Contoh Uji	No. Reg Lab	Tanggal Hasil	Jenis Contoh Uji	Metode Uji	Hasil Uji	Catatan
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Dahak	<input type="text"/>	<input type="text"/>	

Keterangan:

Metode Uji	Hasil Uji
LJ-Lowenstein jensen	Neg = Tidak ada koloni tumbuh 1-9 = Jumlah koloni 1 - 9 1+ = 10-100 koloni 2+ = 101-200 koloni 3+ = > 200 koloni NTM = Ditemukan kuman Mycobacterium Non Tuberculosis KTM = Terjadi Kontaminasi TDL = Tidak Dilakukan
MGIT-MGIT 960	Pos = Positif Neg = Negatif NTM = Ditemukan kuman Mycobacterium Non Tuberculosis TCM = Terjadi Kontaminasi TDL = Tidak Dilakukan

* Paket Standar Uji Kepekaan

- Hasil Pemeriksaan Biakan

Contoh Uji	No. Reg Lab	Tanggal Hasil	Jenis Contoh Uji	Metode Uji	Hasil Uji	Catatan
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Dahak	MGIT	Pos	

Keterangan:

Metode Uji	Hasil Uji
LJ-Lowenstein jensen	Neg = Tidak ada koloni tumbuh 1-9 = Jumlah koloni 1 - 9 1+ = 10-100 koloni 2+ = 101-200 koloni 3+ = > 200 koloni NTM = Ditemukan kuman Mycobacterium Non Tuberculosis KTM = Terjadi Kontaminasi TDL = Tidak Dilakukan
MGIT-MGIT 960	Pos = Positif Neg = Negatif NTM = Ditemukan kuman Mycobacterium Non Tuberculosis TCM = Terjadi Kontaminasi TDL = Tidak Dilakukan

- Paket Standar Uji Kepekaan

Contoh Uji	No. Reg Lab	Tanggal Hasil	Jenis Contoh Uji	Item Uji	Hasil Uji	Item Paket Standar Uji Kepekaan	Catatan
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Dahak	H Dosis Tinggi	<input type="text"/>		
				H	<input type="text"/>		
				Stn	<input type="text"/>		
				Cin	<input type="text"/>		
				LH	<input type="text"/>		
				Mh Dosis Tinggi	<input type="text"/>		
				Mh	<input type="text"/>		
					<input type="text"/>		
					<input type="text"/>		

Catatan:

- Hasil mikroskopis TBC untuk pasien TBC RO sudah 1 (satu) paket bersama dengan pemeriksaan LPA/biakan/uji kepekaan baik untuk alasan pemeriksaan diagnosis, *follow up* atau pengulangan.
- Untuk pengisian hasil pemeriksaan uji kepekaan otomatis dapat terbuka jika hasil pemeriksaan biakan adalah positif. Namun, jika hasil pemeriksaan untuk uji kepekaan dengan hasil pemeriksaan biakan negatif/NTM/kontaminasi, maka tidak dapat dilanjutkan untuk pemeriksaan uji kepekaan sehingga tampilan pengisian hasil tidak dimunculkan di SITB.

Hasil pemeriksaan biakan dan uji kepekaan TBC yang telah diinput di SITB otomatis dapat dilihat oleh pihak / fasyankes pengirim secara *realtime*. Hasil pemeriksaan biakan dan uji kepekaan ini pada formulir TBC-05 manual/TBC-05 SITB ditanda tangani oleh penanggung jawab laboratorium atau *supervisor*. Hasil pemeriksaan biakan dan uji kepekaan harus dicatat dalam formulir TBC-04, formulir TBC-05, formulir TBC-06, dan SITB.

REFERENSI

- (n.d.). Retrieved from www.bioanalytica.de.
- ANDEAN HEALTH ORGANIZATION . (2019). *Manual for The Bacteriological Diagnosis of Tuberculosis. Part 4: Manual of External Quality Assessment Procedures of Bacteriological Methods Applied to Diagnosis and Treatment Monitoring of Tuberculosis*. ANDEAN HEALTH ORGANIZATION.
- CDC. (2020. 6th Edition). *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*.
- CLSI. (1999). *Using Proficiency Testing (PT) to Improve the Clinical Laboratory; Approved Guideline. Vol. 19 No. 15. GP27-A*. ISBN 1-56238-381-7.
- CLSI. (2008). *Laboratory Detection and Identification of Mycobacteria; Approved Guideline. Vol 28 No 17. M48-A*. ISBN 1-56238-669-7.
- ECDC. (2018). *Handbook on tuberculosis laboratory diagnostic methods in the European Union*. ISBN 978-92-9498-264-3.
- Fujiki. (2001). *TB Bacteriology Examination to Stop TB*. JICA.
- GLI. (2008). *Practical Guide To TB Laboratory Strengthening*.
- GLI. (2014). *Mycobacteriology Laboratory Manual*. GLI.
- GLI. (2017). *GLI Practical Guide to TB Laboratory Strengthening*. GLI.
- GLI. (2019). *Laboratory Safety*.
- Kemenkes RI. (2012). *Petunjuk Teknis Pemeriksaan Biakan, Identifikasi, dan Uji Kepekaan Mycobacterium tuberculosis pada Media Padat*. Kementerian Kesehatan RI ISBN 978-602-235-144-3.
- Kemenkes RI. (2015a). *Pedoman Teknis Keselamatan dan Keamanan Kerja Laboratorium*. Kementerian Kesehatan ISBN 978-602-235-743-8.
- Kemenkes RI. (2015b). *Standar Pelayanan Laboratorium Tuberkulosis*. Kementerian Kesehatan ISBN 978-602-235-744-5.
- Scott's, B. a. (n.d.). *Diagnostic Microbiology 13th edition*.
- Siddiqi SH, R.-G. S. (2006). *MGITTM Procedure Manual For BACTECTCM MGIT 960TM TB System. FIND*.
- Tille, P. M. (2014). *Bailey & Scoot's Diagnostic Microbiology 13th edn*. Missouri: Elsevier.
- Van Deun A, W. A. (2011). *Drug susceptibility testing proficiency in the network of supranational tuberculosis reference laboratories*. Int J Tuberc Lung Dis; 15 (1): 116-124.
- WHO. (1998). *Laboratory Services in Tuberculosis Control. Culture Part III*. WHO.
- WHO. (2006). *Biorisk management. Laboratory biosecurity guidance*.

- WHO. (2006). *www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_EFR*. Retrieved from www.who.int.
- WHO. (2011). *Guidance for countries on the specifications for managing TB laboratory equipments and supplies*. ISBN 978-92-4-150306-8.
- WHO. (2011). *Laboratory Quality Management System Handbook*. WHO - ISBN 978-02-4-154827-4.
- WHO. (2012). *Tuberculosis Laboratory Biosafety Manual*. ISBN 978-92-4-150463-8.
- WHO. (2013). *Definition and reporting framework for tuberculosis*. Retrieved from World Health Organization; (WHO/HTM/TB/2013.2; <http://www.who.int/tb/publications/definitions/en>).
- WHO. (2018). *Technical Manual for Drug Susceptibility Testing of Medicines Used in The Treatment of Tuberculosis*. WHO - ISBN 978-92-4-001728-3.
- WHO. (2019). *WHO guidelines on tuberculosis infection prevention and control 2019 update*. ISBN 978-92-4-155051-2.
- WHO. (2021). *Technical Report on Critical Concentrations of Drug Susceptibility Testing of Isoniazid and the Rifamycin (rifampicin, rifabutin, and rifapentine)*. WHO - ISBN 978-92-4-151484-2.
- WHO. (n.d.). *LQMS Handbook*.
- WHO. (n.d.). *Tuberculosis Laboratory Biosafety Manual*. WHO ISBN 978-92-4-150463-8.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Peralatan laboratorium biakan dan uji kepekaan MTB dengan media padat dan media cair

No	Peralatan	Spesifikasi khusus	Fungsi	Jumlah peralatan
1	Bio Safety Cabinet (BSC)	BSC kelas Ila + thimble ducting atau BSC kelas IIb, lebar min. 120 cm, UPS (+)	Lemari pengaman untuk biakan dan uji kepekaan	2
2	Sentrifus	<i>Refrigerated; bench top</i> ; bucket : bebas aerosol, tutup rapat dan ukuran tabung sentrifus 50 ml; <i>swing out rotor</i> ; kapasitas 16 atau lebih x 50 ml; daya sentrifugasi > 3200 G	Mengendapkan mikobakteri dari cairan, dekontaminasi spesimen	1
3	Inkubator	Kapasitas \geq 700 liter. Suhu 30-70°C, terkalibrasi suhu 37°C. Rak dari aluminium atau stainless steel.	Menginkubasi untuk pertumbuhan mikobakteri pada media biakan (LJ) atau menginkubasi media agar darah atau BHI agar untuk cek kontaminasi	1
4	Refrigerator 2-8°C	Kapasitas minimal 300 liter, indikator suhu digital	Menyimpan reagen, media dan sampel, sesuai kebutuhan	2
5	Freezer -20°C	Kapasitas minimal 150 liter	Menyimpan reagen, isolat dan sampel, sesuai kebutuhan	2
6	Deep freezer (-70 atau -80 °C)	Kapasitas minimal 70 liter, interval suhu -50 s.d. -85°C	Menyimpan isolat / kuman kontrol, sesuai kebutuhan	1
7	Autoklaf	Kapasitas min 75 liter, <i>stainless steel bucket</i> , saklar kontrol tekanan otomatis, indikator suhu, timer dan sistem alarm	Mensterilkan media, reagen, peralatan atau limbah infeksius. Ada perbedaan sebagai autoklaf bersih atau kotor (sesuai kebutuhan)	2
8	Timbangan presisi	Timbangan elektronik, kapasitas timbangan 60 g, 120 g atau 210 g ; alas stainless steel dengan diameter sekitar 115 mm.	Menimbang bahan reagen atau media	1
9	Timbangan analitik	Ketelitian mencapai minimal 0,1 mg (4 desimal), kapasitas penimbangan: 1 mg - 200 g; alas stainless steel dengan diameter sekitar 80 mm; timbangan harus dioperasikan pada permukaan antistatis, dalam ruangan dengan suhu konstan dan kelembaban relatif stabil > 65%.	Menimbang obat untuk pembuatan <i>stock solution</i> atau media yang mengandung obat (uji kepekaan). Timbangan juga dapat untuk kalibrasi, rekalisasi, dan memelihara pipet mikroliter	1
10	Micro incinerator	Terbuat dari logam, elemen pemanas keramik dikelilingi oleh penutup isolasi, pemanasan inframerah cepat hingga suhu \geq 800 °C untuk sterilisasi cepat	Mensterilkan ose atau loop inokulasi	2
11	Bunsen burner	Pipa yang kuat	Memanaskan larutan atau media	1
12	Vortex / mini shaker	Kecepatan yang dapat diatur: 100 - 3.000 rpm, mode "kontrol sentuh" kontinu dan intermiten	Menghomogenkan larutan atau suspensi	2

13	pH meter	kisaran pH 0-14 dengan tampilan digital; mode siaga; kalibrasi dengan minimal 3 buffer kalibrasi standar (pH 4.0, 7.0, 10.0)	Mengukur pH reagen, media, atau buffer	1
14	Magnetic stirrer	dengan plate pemanas, Set of 10: 1 × 15 mm, 2 × 20 mm, 2 × 25 mm, 1 × 30 mm, 2 × 40 mm, 2 × 50 mm; round and coated with polytetrafluoroethylene (PTFE).	Menghomogenkan larutan atau suspensi	1
15	Laminar airflow cabinet	Memenuhi persyaratan Kebersihan Udara: Class 100 (ISO 5) atau EN12469 dengan face velocity: 90 ± 20 FPM.	Untuk preparasi media	1
16	Nephelometer	Prinsip pengukuran: 90 ° cahaya tersebar; Rentang pengukuran (NTU): 0 ~ 200; Tampilan minimum (NTU): 0,1; Penyimpangan nol: 1,5% (F.S 30 menit); Stabilitas; nilai tampilan: 1,5% (F.S 30 menit); Pengulangan: = 2%	Mengukur turbiditas atau kekeruhan untuk pengukuran standar McFarland	1
17	Mikroskop	Binokuler, pembesaran total 1000x, lensa anti jamur, kondensor bukan plastik, sediaan lampu cadangan	Mendeteksi BTA dari apusan direk dan indirek	1
18	Hot air oven	Kapasitas 250-300 liter; kontrol termostatis; kisaran suhu ambien hingga 250 ° C dengan penyesuaian; kipas (+), digital	Mensterilkan peralatan	1
19	Hot plate	Rentang pemanasan 40-110°C; lampu indikator panas setiap kali pelat panas di atas 50°C	Mengeringkan slide atau apusan	1
20	Inspissator	Suhu standar: 85 ° C; Suhu operasi. kisaran: ambien +5 hingga 90°C; tampilan suhu: LED; Resolusi layar: 0,1°C; Keseragaman: permukaan baki + atau - 0,7 ° C; Daya pemanas: (sekitar) 1.4Kw, 230V +; Kapasitas tangki: (sekitar) 45 lit; Tingkat pemanasan 20 hingga 85 c; 3,5 jam; area kerja: panjang / lebar: sekitar 820 / 594mm; dimensi keseluruhan (perkiraan) : 1 / w / h: 1040/600 / 380mm	Mensterilkan media yang mengandung protein	1
21	Electronic Thermo Hygrometer	Rentang suhu -10 s.d. 60°C; kelembaban 20-99%	Mengukur suhu ruangan	2
22	Termometer digital	Rentang suhu sesuai kebutuhan	Mengukur suhu (kalibrasi refrigerator atau freezer)	5
23	Waterbath	Stainless Steel; dinding isolator ganda; dinding bagian dalam dari baja tahan karat; suhu termostatik; kontrol dari ambien hingga 85 - 90 ° C lengkap dengan immersion heater	Memanaskan material	1
24	BD BACTEC™ MGIT™ 960 System	Mesin atau instrumen, starter kit, AST starter kit, printer dan UPS	Menginkubasi secara otomatis untuk pertumbuhan mikobakteri pada media cair	1
25	Aksesoris BD BACTEC™ MGIT™ 960 System	AST carrier set (2/3/4/5/8 tabung)	Menempatkan tabung MGIT untuk biakan atau uji kepekaan	secukupnya
26	Inkubator CO ₂	Kapasitas ≥ 700 liter. Suhu 30-70°C, terkalibrasi suhu 37°C. Rak dari aluminium atau stainless steel, tabung CO ₂ .	Menginkubasi untuk pertumbuhan mikobakteri pada	1

			media biakan (7H10 atau 7H11)	
27	<i>Colony counter</i>	Fitur reset hitungan, LCD 3 digit angka, lampu belakang pada tempat hitungan, tombol naik turun, kaca pembesar, pulpen otomatis	Menghitung koloni yang tumbuh pada media biakan 7H10 atau 7H11	1
28	<i>Blender</i>	bahan <i>stainless steel</i> ; bisa disterilkan; volume 1,8 liter	Menghomogenkan telur untuk media LJ	1
29	Destilator/water purifier	Destilator tidak menggunakan "metal type"; otomatis; kapasitas 4-12 l / jam; memproduksi air suling dengan konduktivitas sekitar 3 μ S	Memurnikan air	1
30	Dessicator	Terbuat dari kaca borosilikat; tinggi total sekitar 150 mm; diameter bagian dalam sekitar 175 mm; tutup dengan stopcock dan tutup sekrup (dengan ulir GL32).	Menyimpan bahan higroskopis	2
31	Dry sterilizer	Suhu mencapai 200°C.	Mensterilkan peralatan	1
32	Mikropipet	satu set volume yang berbeda : 0,5 - 10 μ L, 2-20 μ L, 20-200 μ L dan 100-1000 μ L; <i>single channel</i> ; bisa diautoklaf; bahan tahan UV	Memindahkan cairan sesuai dengan keakuratan volume yang dibutuhkan	2 set
33	<i>Digital timer</i>	Dengan fungsi memori dan hitungan mundur (tampilan 2 digit), dengan alarm pada 0 menit	Menghitung waktu dekontaminasi, pengecatan, dll	3
34	Rak tabung	Kapasitas 48 tabung; polipropilen; Ukuran diameter 35 mm dan 16 mm.	Tempat meletakkan tabung uji	5
35	Rak botol biakan	bahan <i>stainless steel</i> ; bisa disterilkan; kapasitas 50 botol	Tempat meletakkan botol biakan LJ	5
36	Gelas Beaker	kapasitas volume 1L, 2L, 500 ml	Untuk pembuatan reagen dan media	1
37	Labu Ukur	kapasitas volume 500 ml, 250 ml, 25 ml, 10 ml	Mengukur volume cairan	1
38	Mangkuk gerusan dan mortir	ukuran 30 x 50 cm	Untuk proses penggerusan atau penghancuran sampel jaringan atau tulang	3
39	Wadah limbah	Tahan tusuk, tidak mudah bocor, bertutup	Untuk pembuangan limbah saat melakukan proses biakan dan uji kepekaan	2
40	Nampan limbah	bahan polipropilen	Untuk alas ketika proses biakan dan uji kepekaan	3
41	Rak pewarnaan	batang kaca dan tabung karet atau silikon, atau kawat atau baja tahan karat dengan ukuran yang sesuai.	Untuk meletakkan sediaan saat proses pewarnaan	2
42	Rak pengering sediaan	logam atau granit (bukan kayu); atau logam atau plastik tahan panas (stabil pada ≥ 120 °C). Rak memiliki 20-30 posisi dan sedikit miring sehingga sediaan mudah diambil.	Untuk meletakkan sediaan saat proses pengeringan	2
43	Kotak penyimpanan sediaan	Kotak dapat menyimpan 100 sediaan (sediaan 76 mm \times 26 mm), kunci kokoh, alas berlapis gabus, dan penutup flap dengan dudukan kartu indeks.	Untuk menyimpan sediaan yang telah dilakukan pewarnaan	sesuai kebutuhan

44	Mortar Set	Terbuat dari Gelas, diameter 10 cm	Untuk menggerus Jaringan	sesuai kebutuhan
45	Gunting Jaringan	Berbahan <i>Stainless</i> , bisa diotoklaf	Menggunting sampel Jaringan	sesuai kebutuhan
46	Timer Digital	Stop Watch, digital, menghitung mundur timer, empat digit (MM: SS)	Sebagai penanda waktu bila sedang dilakukan inkubasi	sesuai kebutuhan
47	Tripod Limbah	Dudukan Tripod Besi untuk menggantung plastik 2 dengan ukuran 2 liter	Untuk limbah pembuangan	sesuai kebutuhan

Lampiran 2. Bahan habis pakai laboratorium biakan dan uji kepekaan MTB dengan media padat dan media cair

No	Bahan Habis Pakai	Spesifikasi
1	Tip pipet 1-200 µl	steril, terbuat dari PPE, berfilter, 96 tip/pak
2	Tip pipet 20-200 µl	steril, terbuat dari PPE, berfilter, 96 tip/pak
3	Tip pipet 100-1000 µl	steril, terbuat dari PPE, berfilter, 96 tip/pak
4	Tip pipet 100-1000 µl	steril, terbuat dari PPE, berfilter, tip panjang (+ 120 mm), 96 tip/pak
5	Pipet Pasteur	steril, dikemas individual, disposibel, plastik, volume 1.5 - 3 ml dengan tanda gradasi 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 dan 3.0
6	Tabung kultur (botol Mc Cartney)	Terbuat dari kaca bening dan bisa diotoklaf; volume 28ml; leher lebar; tutup ulir dari aluminium.
7	Kaca objek	slide mikroskop kaca; 76mm x 26mm x 1.3mm; polos; 50 slide/pak; ujung frosted
8	Labu erlenmeyer	Bisa diotoklaf; volume 250 ml, 300 ml, 500 ml, 1 liter, 3 liter
9	Gelas ukur	Kaca borosilikat, tahan panas, bisa diotoklaf; vol 100 ml dengan gradasi 1 ml, vol 500 ml dengan gradasi 2,5 ml, vol 1000 ml dengan gradasi 5 ml
10	Botol reagen (<i>stoppered bottles</i>)	Kaca, tahan panas, bisa diotoklaf, volume 250 ml, untuk reagen pengecatan
11	Botol reagen plastik untuk cat	terbuat dari polietilen, labu dengan leher sempit, tutup ulir, leher angsa atau dispenser jet, volume 250 ml
12	Pipet Volume	Kaca, tahan panas, bisa diotoklaf, volume 1 ml, 2 ml, 5 ml, 10 ml, 15 ml, 20 ml, 25 ml
13	Pipet ukur	Kaca, tahan panas, bisa diotoklaf, volume 1 ml, 2 ml, 5 ml, 10 ml
14	Gelas beker	Kaca, tahan panas, bisa diotoklaf, volume 100 ml, 250 ml, 500 ml, 1000 ml
15	<i>Glass bead</i>	ukuran 1,5-3 mm, dicuci dengan asam
16	Tabung reaksi	Kaca, tahan panas, bisa diotoklaf, tutup ulir, ukuran 16 x 150 mm
17	Corong	Kaca atau <i>polypropylene</i> , bisa diotoklaf, diameter 5, 10, dan 18 mm
18	Labu ukur	Bisa diotoklaf; volume 10 ml, 25 ml, 250 ml, 500 ml, 1 liter,
19	Tabung sentrifus	Tutup ulir; volume 15 dan 50 ml; <i>polypropylen</i>
20	Cryotube atau cryovial	Tutup ulir dengan uliran di luar; volume 2 ml; terbuat dari <i>polypropylene</i> ; ada area buram; steril dan dapat diotoklaf; stabil pada suhu -196 °C hingga 121 °C; bebas dari RNase, DNase, DNA dan endotoksin
21	Botol reagen transparan	Kaca borosilikat; tahan panas; bisa diotoklaf; volume 250 ml, 500 ml, 2 liter; tutup <i>polypropylene</i>
22	Cawan petri	Kaca borosilikat; dapat diotoklaf; 2 bagian termasuk tutup, ukuran ± 94x16 mm (50/pak)
23	Kotak cryotube/cryovial	Kotak dengan penutup, kuat, anti air, bahan <i>polypropylene</i> atau karton, tahan suhu -90 °C, kotak array 8X8 atau 9x9 atau 10x10, kompatibel untuk menyimpan cryovial vol 2 ml
24	Syring	<i>Polypropylene</i> , disposibel, steril, volume 10 ml, 20 ml

25	Filter syring	Hidrofilik; diameter min. 25 mm; ukuran pori 0,22 m; koneksi Luer; cocok untuk tekanan hingga 5 bar; disposibel; steril dan dikemas individual (100/pak).
26	Kertas saring	Bulat; berat $\pm 75 \text{ g/m}^2$; diameter 150 mm dan 185 mm; mampu menyaring partikel $>4 \text{ m}$ (100/pak).
27	Ose / loop	disposibel, 10 μ l, panjang $\pm 220 \text{ mm}$, plastik, steril, dikemas individual, 25/50/100 buah per kotak
28	Pot dahak	Bening, diameter minimal 4 cm, bertutup ulir, volume 50 ml
29	Botol Pengecatan	Kaca, tahan panas, bisa diotoklaf
30	Sarung tangan latex ukuran S	Bahan latex, disposibel, bebas bubuk, ukuran kecil, ketebalan $>0.16 \text{ mm}$, 100 / pak, dengan manset pergelangan tangan ketat
31	Sarung tangan latex ukuran M	Bahan latex, disposibel, bebas bubuk, ukuran medium, ketebalan $>0.16 \text{ mm}$, 100 / pak, dengan manset pergelangan tangan ketat
32	Sarung tangan latex ukuran L	Bahan latex, disposibel, bebas bubuk, ukuran besar, ketebalan $>0.16 \text{ mm}$, 100 /pak, dengan manset pergelangan tangan ketat
33	Sarung tangan nitril ukuran S	Bahan nitril, disposibel, bebas latex dan bubuk, ukuran kecil, tahan terhadap bahan kimia, EtBr, atau auramin, ketebalan $>0.3 \text{ mm}$, 100/pak
34	Sarung tangan nitril ukuran M	Bahan nitril, disposibel, bebas latex dan bubuk, ukuran medium, tahan terhadap bahan kimia, EtBr, atau auramin, ketebalan $>0.3 \text{ mm}$, 100/pak
35	Sarung tangan nitril ukuran L	Bahan nitril, disposibel, bebas latex dan bubuk, ukuran besar, tahan terhadap bahan kimia, EtBr, atau auramin, ketebalan $>0.3 \text{ mm}$, 100/pak
36	Jas laboratorium ukuran S	Jas laboratorium, lengan panjang berkaret, panjang, tali belakang / samping, tidak tembus air, ukuran kecil
37	Jas laboratorium ukuran M	Jas laboratorium, lengan panjang berkaret, panjang, tali belakang / samping, tidak tembus air, ukuran medium
38	Jas laboratorium ukuran L	Jas laboratorium, lengan panjang berkaret, panjang, tali belakang / samping, tidak tembus air, ukuran besar
39	Respirator (masker N95)	Ukuran universal, kurang dari 0.22 μm , disposibel
40	Masker bedah	Disposibel, tali telinga atau tali kepala, 50/kotak
41	Gaun bedah ukuran S	Gaun bedah, non steril, ukuran kecil, disposibel, pergelangan tangan karet, antistatik, sebagian tahan api dan desinfektan (phenol, bleach, alkohol), penutup belakang dengan pita pengikat yang terbuat dari bahan kain utama
42	Gaun bedah ukuran M	Gaun bedah, non steril, ukuran medium, disposibel, pergelangan tangan karet, antistatik, sebagian tahan api dan desinfektan (phenol, bleach, alkohol), penutup belakang dengan pita pengikat yang terbuat dari bahan kain utama
43	Gaun bedah ukuran L	Gaun bedah, non steril, ukuran besar, disposibel, pergelangan tangan karet, antistatik, sebagian tahan api dan desinfektan (phenol, bleach, alkohol), penutup belakang dengan pita pengikat yang terbuat dari bahan kain utama

44	Penutup kepala	Disposibel, penutup rambut elastis untuk kebersihan, <i>non-woven</i> , kemasan 100 / pak
45	Penutup sepatu	Poly Ethylene, dimensi 21x40 cm, ap, antistatik, tahan cairan, tahan selip untuk keamanan tambahan; bawah mulus dan karet elastis, 1000/pak
46	Kacamata pelindung / goggles	Digunakan dengan kacamata korektif tanpa mengganggu performa kacamata, Frame berbahan kaku atau fleksibel
47	Plastik Limbah <i>Biohazard</i>	Ukuran 30 liter, 45 liter, 60 liter, bisa diotoklaf
48	Plastik Limbah	Ukuran 2 liter, bisa diotoklaf
49	Forceps	steril, plastik, kemasan individu, 145 mm, 50 / pak
50	<i>Paper towel</i>	disposibel, 230x 300 mm, lipatan, kotak di dinding
51	Alat Tulis	Sesuai Kebutuhan
52	Kertas lensa	Tisu pembersih lensa mikroskop lembut, buklet 4" x 6", setiap buklet berisi 100 lembaran
53	Indikator Sterilisator	Jenis Indikator Biologis, Organisme: Spora <i>Geobacillus stearothermophilus</i> , Strain: ATCC 7953, Populasi spora yang layak: $1-2 \times 10^6$, Kultur: Media bakteriologis dengan kemampuan mendorong pertumbuhan dan indikator pH, Inkubasi suhu: 55–60 ° C, untuk mengkonfirmasi efektivitas sterilisasi uap pada 121°C selama 15 menit dan fungsi autoklaf yang optimal untuk menghindari sterilisasi yang tidak memadai
54	Parafilm	Parafilm, lebar 100 mm, panjang 38 m, untuk penggunaan antara 40 ° C hingga +50 ° C

Lampiran 3. Reagen laboratorium biakan dan uji kepekaan MTB dengan media padat dan media cair

Kategori	Jenis	Nama	Spesifikasi
Pemeriksaan Mikroskopis	Pewarnaan ZN	Basic fuch sine	Rumus kimia: $C_{20}H_{20}ClN_3$, Bersertifikat, CI; 42510; MW: 337,85 g/mol; titik leleh (dekomposisi) 200 °C; komponen produk utama 80% (100 g/botol).
		Methylene blue	$C_{16}H_{18}ClN_3S \cdot 2-3H_2O$; Bersertifikat; CI 50015; MW 319,86 g/mol; titik leleh (penguraian) ~180 °C; komponen pewarna 82% (100 g/botol)
		Kristal fenol tidak berwarna	C_6H_6O ; potensi ($\geq 99\%$); MW 94,11 g/mol; titik leleh 40,8 °C (5 kg/pak) (Catatan: kristal dapat menjadi kemerahan seiring waktu)
		Etanol untuk larutan cat	Rumus kimia: C_2H_6O ; Etanol (96% murni); MW 46,07 g/mol; titik didih 75–78 °C (2,5 liter/botol)
		Etanol untuk dekolorisasi	Rumus kimia: C_2H_6O ; Etanol (96% murni); MW 46,07 g/mol; titik didih 75–78 °C (2,5 liter/botol)
		Hydrochloric acid	Rumus kimia: HCl; 35% HCl, densitas $\geq 1,17$ g/cm ³ ; MW 36,5 g/mol (2,5 liter/botol)
		Concentrated sulfuric acid	Rumus kimia: H_2SO_4 ; kepadatan 1,84 g/cm ³ ; MW 98,08 (2,5 liter/botol)
	Pembacaan mikroskopis	Minyak imersi	minyak sintetis, indeks refraktori 1,515–1,517; viskositas pada 20 °C dari 100-120 mPa·s; tidak berpendar; transparansi cahaya pada 400 nm dari 75%.
Media	Media LJ	Media LJ base	serbuk atau bubuk; 500 mg; non steril; pH akhir 7.0 ± 0.2 (25°C)
		<i>Malachite Green</i>	$C_{23}H_{25}ClN_2$, <i>Malachite green Hydro Chloride</i> , MW : 364.9, warna: hijau, pewarna: 80%+9%, kelarutan : air dan alkohol, stabilitas : > 1 tahun
		Glyserol	$CH_2OHCHOHCH_2OH$; MW: 92.1; kemurnian 99.5%
		Aquades	H_2O ; pH = 5-8; TDS = 0-5 ppm
		Telur homogen	Telur ayam/bebek yang diberi pakan tanpa faktor pertumbuhan atau antibiotik, bersumber dari produsen lokal; masing-masing 1600 ml media

	Media agar 7H10	Middlebrook 7H10 <i>agar base</i>	serbuk atau bubuk; 500 mg; non steril; pH akhir 6.6±0.2 (25 °C)
		Middlebrook OADC <i>growth supplement</i>	BACTEC MGIT OADC Kit for Manual MGIT Catalogue No: 245116
		Glycerol	CH ₂ OHCHOHCH ₂ OH; MW: 92.1; kemurnian 99.5%
	Media agar 7H11	Middlebrook 7H11/7H11 <i>Selective Agar base</i>	serbuk atau bubuk; 500 mg; non steril; pH akhir 6.6±0.2 (25 °C)
		Middlebrook OADC <i>growth supplement</i>	BACTEC MGIT OADC Kit for Manual MGIT, No katalog: 245116
		Glycerol	CH ₂ OHCHOHCH ₂ OH; MW: 92.1; kemurnian 99.5%
	MGIT	Media MGIT	Tabung BBL MGIT untuk digunakan pada Bactec MGIT 960 (7ml) - 100 tabung/pak, No katalog: 245122
		<i>Supplement</i> OADC	BACTEC MGIT OADC Kit untuk MGIT manual; No katalog: 245116
		PANTA	BACTEC MGIT PANTA™ Kit untuk MGIT manual; No katalog: 245114
		Media MGIT PZA	BACTEC™ MGIT™ 960 - PZA Medium; No katalog: 245115
Kit PZA		BACTEC™ MGIT™ 960 - PZA Kit; No katalog: 245128	
Kit MGIT		BACTEC MGIT 960 <i>Supplement</i> Kit (100 tes, PANTA dan OADC); No katalog: 245124	
Kit MGIT SIRE		BACTEC™ MGIT™ 960 SIRE kit, 1 kit untuk 40 tes; No katalog: 245123	
Kit kalibrator MGIT		BD BBL™ Calibrators Kit (1 paket untuk 1 laci mesin MGIT)	
AST Carrier		BACTEC MGIT 960 AST transport rack - 445942	
Biakan	Dekontaminasi dan homogenisasi	N-acetyl-L-cystein	C ₅ H ₉ N ₃ O ₃ S, MW: 163.2, Kemurnian ≥99%
		Sodium Hydroxide	NaOH, MW:40g/mol, Minimum Assay:98%
		Tri sodium citrate	Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ .2H ₂ O, AR grade, MW (FW):294.10, Kemurnian: 99%

		Tween 80 (0,05%)	Poly-oxy-ethylene-80-sorbitan-mono-oleate, AR atau GR Grade, Densitas =1.06 - 1.09 g/ml
		Phosphate-buffered saline (PBS)	Na ₂ HPO ₄ , Disodium hydrogen phosphate, Untuk buffer; anhydrous; MW: 141.96
		Potassium dihydrogen phosphate (anhydrous)	KH ₂ PO ₄ , Potassium Di Hydrogen ortho Phosphate, MW: 136.1, Minimum Assay 99%
Identifikasi	Larutan PNB	PNB	C ₆ H ₄ CO ₂ HNO ₂ , MW: 167.12, Min assay =99%
		Dimetil formamide	HCON(13CH ₃) ₂ ; MW: 73,09; cairan putih air dengan bau amis samar. Titik nyala 136°F. Sedikit kurang padat daripada air.
	Uji Niacin	Niacin strip	Niacin strip, 50 per pak
Uji Kepekaan (DST)	Obat	Rifampicin	Sigma R3501
		Isoniazid	Sigma I3377
		Ethambutol dihydrochloride	Sigma E4630
		Streptomisin sulphate	Sigma S6501
		Ofloxacin	Sigma O8757
		Ethioniamide	Sigma E-6005
		Kanamycin Sulfate	Sigma K4000
		Amikacin Disulphate	Sigma A1774
		Capreomycin Sulfate	Sigma C4142
		Levofloxacin	Sigma 28266
		Moxifloxacin	Sigma 32477
		Para Amino Salicylic Acid (PAS)	Sigma A79604
		Linezolid	Sigma PZ0014
Clofazamine	Sigma C8895		

		Bedaquiline	JnJ
		Delamanid	1. Otsuka; 2. Adooq Bioscience (http://adooq.com/delamanid.html) (A12864-10)
	Pelarut obat	Methanol absolut	CH ₃ OH; assay 99.8%;
		Ethanol 95%	CH ₃ CH ₂ OH; MW: 46.07
		DMSO	(CH ₃) ₂ SO; Dimethyl Sulfoxide; MW 78.13
	Sodium Hydroxide	NaOH; MW:40g/mol, Minimum Assay:98%	
Penyimpanan stok kuman	Penyimpanan koloni pada -70°C	Skim milk	serbuk atau bubuk putih; suspensi putih buram; Total Nitrogen 5,3% ± 0,5, Laktosa 48,0% ± 0,5
		Glyserol	CH ₂ OHCHOHCH ₂ OH; MW: 92.1; kemurnian 99.5%
K3	Desinfektan	Phenol crystals (carbolic acid)	C ₆ H ₅ OH, phenol; MW : 94.11; titik leleh: 40°C +2; kemurnian : 99,5%
		Sodium hypochloride	NaClO; konsentrasi tidak kurang dari 4%; sediaan 5L/pak
		Potassium Dichromate	K ₂ Cr ₂ O ₇ ; MW: 294,2; min assay : 99,5%
		Sulphuric acid	H ₂ SO ₄ ; MW: 98.08; Gravitas spesifik: 1.84; min assay: 98%

Lampiran 4. Contoh Surat Pemberitahuan dan Formulir Kesiadaan Mengikuti Uji Panel



KEMENTERIAN KESEHATAN RI

DIREKTORAT JENDERAL PELAYANAN KESEHATAN

BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA

Jalan Karangmenjangan No. 18 Surabaya - 60286

Telepon Pelayanan : (031) 5020306, TU : (031) 5021451; Faksimili : (031) 5020388

Website : bblksurabaya.id; Surat elektronik : bblksub@yahoo.co.id



Nomor : YM.01.03/XLI.2.1/ /2020 2 Juni 2020
Lampiran : Dua lembar
Hal : Pemberitahuan Pelaksanaan Pemantapan Mutu Eksternal (PME)
Uji Kepekaan *M. tuberculosis* Tahun 2020

Yth. (daftar terlampir)

Berdasarkan Keputusan Menteri Kesehatan Nomor 1909 tahun 2011 tentang Laboratorium Rujukan Tuberkulosis Nasional (LRN TB), BBLK Surabaya merupakan LRN untuk pemeriksaan biakan dan uji kepekaan *M. tuberculosis* fenotipik. Salah satu tugas LRN Biakan dan Uji Kepekaan TB adalah menyelenggarakan Pemantapan Mutu Eksternal (PME).

Sehubungan dengan hal tersebut, BBLK Surabaya akan menyelenggarakan **Program Pemantapan Mutu Eksternal (PME) Uji Kepekaan *M. tuberculosis* Tahun 2020**. Kami mohon Saudara dapat mengirimkan surat pernyataan kesediaan untuk mengikuti program PME tersebut sesuai contoh terlampir. *Scan* surat pernyataan dapat dikirimkan ke email bblksubtb@yahoo.co.id paling lambat pada 9 Juni 2020.

Informasi lebih lanjut tentang kegiatan ini dapat menghubungi dr. Titiek Sulistyowati, M.Ked.Klin, Sp.MK (08123223435).

Demikian pemberitahuan ini kami sampaikan. Atas perhatian dan kerjasama Saudara diucapkan terima kasih.

Kepala

dr. H. Abidin, MPH
NIP. 196104051988031003

Tembusan :

1. Direktur Jenderal Pelayanan Kesehatan
2. Direktur Jenderal P2P cq Direktur P2PML

**SURAT PERNYATAAN KESEDIAAN
MENGIKUTI PROGRAM PEMANTAPAN MUTU EKSTERNAL (PME)
UJI KEPEKAAN TB TAHUN 2020**

Menindaklanjuti surat dari LRN Biakan dan Uji Kepekaan TB BBLK Surabaya Nomor YM.01.03/XLI.2.1/ /2020 tanggal 2 Juni 2020, bersama ini kami menyatakan **bersedia/tidak bersedia*)** mengikuti Pemantapan Mutu Eksternal (PME) Uji Kepekaan TB tahun 2020.

Adapun petugas pelaksana panel uji kepekaan adalah sebagai berikut:

Nama :
NIP :
Pangkat/Gol :
Jabatan :
Nomor Hp :
Email :
Instansi :
Alamat Instansi :
Telepon :
Email :

Demikian surat pernyataan ini kami buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

....., 2020

Mengetahui
Penanggungjawab Laboratorium TB

Petugas Pelaksana Panel

Catatan:

1. *) pilih salah satu
2. Scan surat pernyataan ketersediaan dapat dikirimkan ke email bblksubtb@yahoo.co.id paling lambat 9 Juni 2020.

Catatan :

Harap mengirimkan surat pernyataan kesediaan ini melalui Fax, Email, Via POS paling lambat tanggal, apabila sampai melebihi tenggang waktu yang ditentukan maka dianggap tidak mengikuti program ini dan tidak akan dikirim bahan Panel uji Kepekaan

Lampiran 5. Contoh Surat Pengantar Pengiriman Panel & Formulir Tanda Penerimaan untuk Peserta



KEMENTERIAN KESEHATAN RI

**DIREKTORAT JENDERAL PELAYANAN KESEHATAN
BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA**

Jalan Karangmenjangan No. 18 Surabaya - 60286
Telepon Pelayanan : (031) 5020306, TU : (031) 5021451; Faksimili : (031) 5020388
Website : bblksurabaya.id; Surat elektronik : bblksub@yahoo.co.id



Nomor : YM.01.03/XLI.2.1/ /2020 3 Juli 2020
Lampiran : Satu lembar
Hal : Pemberitahuan Pengiriman Isolat Pemantapan Mutu Eksternal (PME)
Uji Kepekaan *M. tuberculosis* Tahun 2020

Yth. (daftar terlampir)

Berdasarkan Keputusan Menteri Kesehatan Nomor 1909 tahun 2011 tentang Laboratorium Rujukan Tuberkulosis Nasional (LRN TB), BBLK Surabaya merupakan LRN untuk pemeriksaan biakan dan uji kepekaan *M. tuberculosis* fenotipik. Salah satu tugas LRN Biakan dan Uji Kepekaan TB adalah menyelenggarakan Pemantapan Mutu Eksternal (PME).

Sehubungan dengan hal tersebut, LRN TB BBLK Surabaya akan mengirimkan 1 (satu) paket bahan PME Uji kepekaan *M. tuberculosis* pada Juli 2020. Kami mohon Saudara dapat mengirimkan hasil jawaban sesuai format terlampir **maksimal 3 (tiga) bulan setelah penerimaan spesimen (13 Oktober 2020)**. **Mohon untuk memperhatikan jadwal tersebut.**

Hasil jawaban PME **harus ditandatangani** oleh **Kepala/Supervisor/Penanggung Jawab Laboratorium dan dicap basah** dengan **lampiran print out hasil MGIT**. Berkas tersebut kemudian dikirim ke email **bblksubtb@yahoo.co.id**.

Informasi lebih lanjut tentang kegiatan ini dapat menghubungi dr. Titiek Sulistyowati, M.Ked.Klin, Sp.MK (08123223435).

Demikian pemberitahuan ini kami sampaikan. Atas perhatian dan kerjasama Saudara diucapkan terima kasih.

Kepala

dr. H. Abidin, MPH
NIP. 196104051988031003

Tembusan :

1. Direktur Jenderal Pelayanan Kesehatan
2. Direktur Jenderal P2P cq Direktur P2PML



KEMENTERIAN KESEHATAN RI

DIREKTORAT JENDERAL PELAYANAN KESEHATAN

BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA

Jalan Karangmenjangan No. 18 Surabaya - 60286

Telepon Pelayanan : (031) 5020306, TU : (031) 5021451; Faksimili : (031) 5020388

Website : bblksurabaya.id; Surat elektronik : bblksub@yahoo.co.id



Nomor : YM.01.03/XLI.2.1/ /2020
Hal : Tanda Terima Pengiriman Isolat
Panel Uji Kepekaan TB Tahun 2020

Juli 2020

Yth. Kepala Balai Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Sulawesi Utara
Jl. 17 Agustus Kec. Wanea Kota Manado

Bersama ini kami kirimkan 20 (dua puluh) *tube* isolat untuk **Program Pemantapan Mutu Eksternal (PME) Uji Kepekaan *M. tuberculosis* Tahun 2020**. Petunjuk pelaksanaan terlampir.

Atas perhatian dan kerjasama Saudara diucapkan terima kasih.

Kepala,

dr. H. Abidin, MPH

NIP. 196104051988031003

✕

Segera kirimkan kembali potongan ini ke alamat email penyelenggara

TANDA TERIMA

No	Jenis Barang	Jumlah	Volume	Keterangan
1.	Isolat dalam <i>cryotube</i>	20 <i>tube</i>	1,5 ml	<input type="checkbox"/> Baik <input type="checkbox"/> Rusak

(Beri tanda ✓ pada)

Tanggal diterima :

Yang Menerima,

(_____)

Instansi: BLKD Provinsi Sulut

Catatan:

Scan tanda terima dapat dikirimkan ke email bblksubtb@yahoo.co.id paling lambat 3 hari sejak isolat diterima.

Lampiran 6. Contoh Rencana Jadwal PME Uji Kepekaan *M. tuberculosis*

NO	JADWAL	Bulan
1	Pengiriman surat pemberitahuan	Juli 2020
2	Produksi	Juli 2020
3	Administrasi surat kelengkapan PME	Juli 2020
4	<i>Packing</i>	Juli 2020
5	Kirim bahan PME	Juli 2020
6	Konfirmasi barang / belum datang	Juli 2020
7	Kirim ulang bila ada masalah	Juli 2020
8	Pelaksanaan uji kepekaan	Juli 2020
9	Laporan hasil uji kepekaan	Oktober 2020
10	Evaluasi	November 2020
11	Pengiriman sertifikat	Desember 2020

Lampiran 7. Contoh Formulir Pengisian Hasil Panel Uji Kepekaan SDP

Lembar Jawaban Panel Uji Kepekaan TB Tahun 2020								
Nama lab :								
Tanggal terima isolat:								
Tanggal selesai panel:								
No	Media Cair (MGIT)							
Sampel	Isoniazid konsentrasi tinggi	Moksifloksasin konsentrasi tinggi	Amikasin	Bedaquilin	Linezolid	Clofazimin	Delamanid	Pirazinamid
Isolat 1								
Isolat 2								
Isolat 3								
Isolat 4								
Isolat 5								
Isolat 6								
Isolat 7								
Isolat 8								
Isolat 9								
Isolat 10								
Isolat 11								
Isolat 12								
Isolat 13								
Isolat 14								
Isolat 15								
Isolat 16								
Isolat 17								
Isolat 18								
Isolat 19								
Isolat 20								
			, 2020				
			Mengetahui Penanggungjawab Laboratorium TB			Petugas Pelaksana Panel		
			Cap Basah					
			Ttd & nama			Ttd & nama		
Scanned lembar jawaban dapat dikirimkan ke email bbksubtb@yahoo.co.id File softcopy sudah dikirimkan ke email masing-masing laboratorium								

Lampiran 8. Contoh Daftar Laboratorium Peserta Panel Tahun 2020

No.	Nama	JENIS PANEL	Status sertifikasi
1	Mikro UI	SDP	
2	RSP Jakarta	SDP	
3	BLK Bandung	SDP	
4	NHCR Makasar	SDP	
5	BLK Jayapura	SDP	
6	BLK Semarang	SDP	
7	BBLK Jakarta	SDP	
8	RS Adam Malik	SDP	
9	BBLK Palembang	SDP	
10			
11			
12			
13			
14			

Lampiran 9. Lembar Penilaian Laboratorium Biakan TBC

Lembar penilaian sertifikasi mutu laboratorium biakan TBC

Nama Laboratorium yang dikunjungi :

Kepala laboratorium/ supervisor :

Alamat Laboratorium :

.....

Tanggal kunjungan :

No.	KOMPONEN YANG DINILAI	Presentase	Skor	TOTAL
A	Komitmen			
1	Tim laboratorium TBC dengan uraian tugas bagi semua petugas.			
2	Dokumen pengelolaan laboratorium TBC a Ketersediaan sarana prasarana: - reagen/ bahan habis pakai - alat - pemeliharaan alat b Pengembangan SDM : - Pelatihan - Pengadaan SDM (jumlah, kualifikasi)			
3	Dokumen yang menyatakan bahwa setiap petugas bekerja secara professional			
4	Dokumen Pemantapan Mutu Internal: ✓ SPO Pengumpulan contoh uji ✓ SPO Pemeriksaan mikroskopis BTA ✓ SPO Pemeriksaan biakan ✓ SPO Identifikasi ✓ SPO Pengolahan limbah ✓ SPO Pembuatan media biakan ✓ SPO Pengendalian dan pencegahan Infeksi			

	✓ SPO Pemeliharaan alat			
B	Infrastruktur			
1	Infrastruktur sesuai dengan pedoman nasional yang berlaku			
2	Pemeliharaan infrastruktur dilakukan secara terjadwal dan terdokumentasi			
C.	Sumber Daya Manusia (SDM)			
1	Tenaga a. Tenaga teknis laboratorium D3 analis kesehatan, - Jumlah tenaga teknis laboratorium terlatih pembuatan media - Jumlah tenaga teknis laboratorium terlatih biakan b. Tenaga penyelia c. Tenaga teknis pemeliharaan alat d. Tenaga administrasi e. Petugas pengelolaan alat			
2	Kinerja laboratorium biakan a. Implementasi SPO b. Pencapaian indikator kinerja utama c. Frekuensi pemeriksaan biakan (minimal seminggu 1 kali pemeriksaan)			
D.	Metode			
1	Penerapan SPO sesuai dengan standar nasional yang direkomendasikan			
2	Pelaksanaan metode biakan sesuai standar yang disepakati oleh manajemen dan pelaksana di laboratorium			
E.	Sarana dan prasarana			
1	Alat - BSC kelas IIa - Sentrifuse dingin dengan <i>biocontained</i> - Inkubator			

	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Oven blower</i>/inspisator - Timbangan analitik - <i>Autoclave</i> - Mikroskop 			
2	<p>Alat Pelindung Diri</p> <ul style="list-style-type: none"> - Jas laboratorium (gown) - Masker bedah - Sarung tangan - <i>Spill kit</i> 			
3	<p>Fasilitas penunjang</p> <ul style="list-style-type: none"> - Tersedia air bersih mengalir - Daya listrik cukup - Pengatur suhu ruangan/aliran udara mekanik (AC, <i>exhaust</i>) 			
F. Reagen dan Bahan Habis Pakai				
1	<p>Bahan habis pakai</p> <ul style="list-style-type: none"> - Botol Mc Cartney - Media Ogawa/LJ/MGIT - Pipet - Reagen untuk dekontaminasi 			
G. Dana				
1	Perencanaan dana untuk tata kelola laboratorium dilakukan secara mandiri dan berkesinambungan			
H. Pemantapan Mutu Internal				
1	<p><u>Dokumentasi</u></p> <ul style="list-style-type: none"> a. Uji Identifikasi b. Angka kontaminasi 			
2	<p><u>Uji kualitas media padat</u></p> <ul style="list-style-type: none"> a. Uji sterilitas b. Uji kesuburan c. Uji fisik (warna, permukaan media, volume, homogenitas, kepadatan) 			
3	<p>Pengamatan reagensia pada biakan media cair</p> <ul style="list-style-type: none"> a. Tanggal kadaluarsa b. Uji fisik (kekeruhan dan warna) c. Penggunaan bakteri kontrol 			

4	Pembacaan dan pelaporan hasil biakan <i>M. tuberculosis</i> sesuai standar			
I	Pemantapan Mutu Eksternal (PME)			
	Laboratorium mengikuti PME (uji banding secara mandiri dan supervise) dan akreditasi secara aktif dan mandiri			
J	Indikator Kinerja Utama (IKU)			
	<ul style="list-style-type: none"> - IKU terdokumentasi dengan baik dan dilaporkan secara rutin kepada LRN dan Subdit TBC - Laboratorium memonitoring dan mengevaluasi IKU secara rutin 			
Total				

Lampiran 10. Lembar Definisi Operasional Penilaian Kesiapan Mengikuti Tes Panel Laboratorium Uji Kepekaan TBC

**DEFINISI OPERASIONAL
PENILAIAN KESIAPAN MENGIKUTI TES PANEL LABORATORIUM UJI
KEPEKAAN TBC**

KOMPONEN YANG DINILAI	DEFINISI OPERASIONAL
A. KOMITMEN MANAJEMEN (15%)	
<p>1. Tim laboratorium TBC dengan uraian tugas bagi semua petugas.</p> <p>Bobot : 3</p> <p>Skor :</p> <p>2 = Ada tim laboratorium TBC dan uraian tugas 1 = Ada tim laboratorium TBC tanpa uraian tugas 0 = tidak ada keduanya</p>	<p>Minimal total skor 5</p>
<p>2. Dokumen pengelolaan laboratorium TBC</p> <p>a. Ketersediaan sarana prasarana:</p> <ul style="list-style-type: none"> - reagen/ bahan habis pakai - alat - pemeliharaan alat <p>Bobot: 1</p> <p>Skor:</p> <p>2= Ada lengkap 1= Ada, tidak lengkap 0= tidak ada</p> <p>b. Pengembangan SDM :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pelatihan - Pengadaan SDM (jumlah, kualifikasi) <p>Bobot : 1</p> <p>Skor:</p> <p>2= Ada lengkap 1= Ada, tidak lengkap 0= tidak ada</p>	<p>Dokumen pengelolaan laboratorium TBC</p> <p>Dokumen sarana prasarana : Lengkap: tersedia dokumen perencanaan, pengadaan sarpras, inventaris, reagen/Bahan habis pakai, alat dan pemeliharaan alat (termasuk kalibrasi)</p> <p>Dokumen Pengembangan SDM : Lengkap: tersedia rencana pelatihan internal maupun eksternal dokumen perencanaan, pengadaan, proses orientasi SDM</p>
<p>3. Dokumen yang menyatakan bahwa setiap petugas bekerja secara professional</p> <p>Bobot: 1</p>	

<p>Skor: 1= ada dokumen 0= tidak ada dokumen</p>	
<p>4. Dokumen pemantapan mutu internal:</p> <ul style="list-style-type: none"> • SPO Pengumpulan contoh uji • SPO Pemeriksaan mikroskopis BTA • SPO Pemeriksaan biakan • SPO Identifikasi • SPO Pemeriksaan uji kepekaan • SPO Pengolahan limbah • SPO Pembuatan media biakan • SPO Pembuatan media uji kepekaan • SPO Pengendalian dan pencegahan Infeksi • SPO Pemeliharaan alat <p>Bobot : 2</p> <p>Skor: 2= ada prosedur tetap lengkap, implementasi sesuai 1= ada prosedur tetap lengkap, implementasi tidak sesuai 0= prosedur tetap tidak lengkap</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Ada Prosedur tetap lengkap dan diimplementasikan sesuai standar nasional. • Ada prosedur tetap lengkap tapi implementasi tidak sesuai. Misal, uji kepekaan metode LJ digunakan memakai media ogawa • Prosedur tetap tidak lengkap.
<p>B. PENCEGAHAN DAN PENGENDALIAN INFEKSI (15%)</p>	
<p>1. Sarana ruangan laboratorium TBC harus terpisah dari ruangan pemeriksaan laboratorium lainnya.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anteroom, ruang biakan dan uji kepekaan • Standar keamanan memenuhi persyaratan laboratorium TBC <p>Bobot: 2</p> <p>Skor: 2= lengkap dan terpisah 1= tidak lengkap dan terpisah 0= ada tetapi bergabung</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Lengkap ada ruang pemeriksaan laboratorium TBC yang khusus • Tidak lengkap tetapi terpisah dari kegiatan pemeriksaan laboratorium lain; tidak ada anteroom • Bergabung dengan ruang pemeriksaan lain
<p>2. Lokasi pengumpulan dahak sesuai standar</p> <p>Bobot : 1,5</p> <p>Skor: 2= ada dan sesuai standar 1= ada, tidak sesuai standar 0= tidak ada</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Ada dan sesuai standar; tempat pengumpulan dahak memiliki fasilitas: <ul style="list-style-type: none"> - ventilasi yang baik - air mengalir dan sabun untuk cuci tangan

	<ul style="list-style-type: none"> - jauh dari tempat berkumpul • ada, tidak sesuai standar: <ul style="list-style-type: none"> - Lokasi di tempat terbuka • Tidak ada; berdahak di kamar mandi tanpa ventilasi yang sesuai dan tidak terkena sinar matahari
<p>3. Sirkulasi udara yang baik: aliran udara dari area bersih ke area kotor dengan memperhatikan keamanan lingkungan</p> <p>Bobot: 3</p> <p>Skor:</p> <p>1= Ada aliran udara yang baik 0= tidak ada aliran yang baik</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Sirkulasi udara yang baik adalah sistem pengaturan aliran udara yang mengalir dari area bersih ke area kotor dan dialirkan keluar laboratorium ke area yang aman (yang ideal melalui HEPA filter)
<p>4. Pencegahan dan pengendalian infeksi</p> <ul style="list-style-type: none"> • Alat pelindung diri (Jas Laboratorium, masker sesuai standar, sarung tangan dan alas kaki tertutup bagian atas) • Sabun cuci tangan • Bak cuci tangan dengan air mengalir • Disinfektan • Pemisahan limbah infeksius dan non infeksius • Pengelolaan limbah infeksius sesuai standar <p>Bobot: 3</p> <p>Skor:</p> <p>2= tersedia, lengkap 1= tersedia, tidak lengkap 0= tidak tersedia</p>	<p>Tersedia</p>
<p>C. TENAGA KERJA (15%)</p>	
<p>1. Tenaga</p> <p>a. Tenaga teknis laboratorium D3 analis kesehatan,</p> <ul style="list-style-type: none"> - Jumlah tenaga teknis laboratorium terlatih pembuatan media - Jumlah tenaga teknis laboratorium terlatih biakan - Jumlah tenaga teknis laboratorium terlatih uji kepekaan 	<ul style="list-style-type: none"> • Tenaga teknis 3 orang • Tenaga Penyelia 1 orang • Tenaga admin 1orang • Tenaga pemeliharaan alat 1 orang • Petugas pengelolaan alat 1 orang: melakukan sterilisasi, pencucian, penyimpanan

<p>b. Tenaga penyelia c. Tenaga teknis pemeliharaan alat d. Tenaga administrasi e. Petugas pengelolaan alat</p> <p>Bobot: 5</p> <p>Skor:</p> <p>2 = Kualifikasi dan jumlah terpenuhi 1 = kualifikasi terpenuhi, jumlah tidak terpenuhi 0 = Kualifikasi dan jumlah tidak terpenuhi</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Terpenuhi apabila kualifikasi dan jumlah tenaga terlatih sesuai standar pelayanan laboratorium biakan dan uji kepekaan • Tidak terpenuhi apabila kualifikasi dan jumlah tenaga terlatih tidak sesuai standar pelayanan laboratorium biakan dan uji kepekaan
<p>2. Kinerja Laboratorium biakan dan uji kepekaan TBC</p> <p>a. Implementasi SPO b. Pencapaian indikator kinerja c. Frekuensi pemeriksaan biakan (seminggu 2 kali pemeriksaan) dan Frekuensi pemeriksaan uji kepekaan (seminggu 1 kali pemeriksaan)</p> <p>Bobot: 2</p> <p>Skor:</p> <p>2 = Implementasi SPO dilaksanakan lengkap, Indikator kinerja dan frekuensi pemeriksaan tercapai 1 = implementasi SPO dilaksanakan tanpa pencapaian indikator kinerja dan frekuensi pemeriksaan 0 = Kinerja laboratorium tidak tercapai</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Melakukan pemeriksaan biakan secara rutin minimal 2 kali seminggu dengan lima contoh bahan uji setiap pemeriksaan • Melakukan latihan uji kepekaan sekali dalam seminggu dengan 5 contoh uji
<p>D. SARANA DAN PRASARANA (15%) KETERSEDIAAN ALAT DAN BAHAN HABIS PAKAI</p>	
<p>1. Alat</p> <ul style="list-style-type: none"> - BSC kelas IIa - Sentrifuse dingin dengan <i>biocontained</i> - Inkubator / mesin MGIT - <i>Oven blower</i>/inspisator - Timbangan analitik - Otoklaf - Mikroskop <p>Bobot: 5 Skor:</p> <p>1= lengkap</p>	<p>DO jelas</p>

0= tidak lengkap	
<p>2. Bahan habis pakai</p> <ul style="list-style-type: none"> - Botol Mc Cartney - Media Ogawa/LJ - OAT murni untuk uji kepekaan lini 1 dan lini 2 <p>Bobot: 5</p> <p>Skor:</p> <p>1= lengkap</p> <p>0= tidak lengkap</p>	
<p>3. Fasilitas penunjang</p> <ul style="list-style-type: none"> - Tersedia air bersih mengalir - Daya listrik cukup - Pengatur suhu ruangan/aliran udara mekanik (AC, exhaust) <p>Bobot: 5</p> <p>Skor:</p> <p>1= lengkap</p> <p>0= tidak lengkap</p>	<p>Daya listrik cukup, dengan adanya Genset, tegangan yang stabil dengan atau tanpa stabilisator</p>
<p>E. PELAKSANAAN PEMANTAPAN MUTU INTERNAL DAN EKSTERNAL (40%)</p>	
<p>1. Indikator kinerja -15%</p> <p>a. Uji Identifikasi</p> <p>Bobot:4</p> <p>Skor:</p> <p>Media padat / cair</p> <p>1 = Pewarnaan ZN suspensi biakan dan Uji PNB atau Niacin atau uji immunokromatografi (MPT64)</p> <p>0 = Tidak dilakukan/dilakukan hanya satu uji</p> <p>b. Angka kontaminasi</p> <p>Bobot:3</p> <p>Skor :</p> <p>1 = dalam rentang normal (Padat: 3-5%; cair: 5-8%)</p> <p>0 = di luar rentang normal</p>	<p>Biakan dengan media padat atau cair (minimal 2 uji identifikasi)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Uji identifikasi awal dengan Pewarnaan ZN suspensi biakan • Ditambah dengan uji PNB atau niacin atau uji immunokromatografi (MPT64)

<p>c. Jumlah dan proporsi spesimen diagnostic BTA positif dengan hasil biakan positif MTB</p> <ul style="list-style-type: none"> - Jumlah dan proporsi spesimen diagnostik BTA positif dengan hasil biakan positif MTB pada media padat atau cair <p>Bobot: 2</p> <p>Skor:</p> <p>1 = dalam rentang normal yaitu 85% - 90% (media padat); 95% - 98% (media cair)</p> <p>0 = di luar rentang normal</p> <p>d. Jumlah dan proporsi spesimen diagnostik BTA negatif dengan hasil biakan positif MTB</p> <ul style="list-style-type: none"> - Jumlah dan proporsi spesimen diagnostik BTA negatif dengan hasil biakan positif MTB pada media padat atau cair <p>Bobot: 2</p> <p>Skor:</p> <p>1 = dalam rentang normal yaitu 20-30%</p> <p>0 = di luar rentang normal</p> <p>e. Penggunaan bakteri kontrol pada uji kepekaan</p> <p>Bobot: 4</p> <p>Skor:</p> <p>1 = menggunakan bakteri kontrol sesuai standar</p> <p>0 = tidak menggunakan</p>	
<p>2. Uji kualitas media padat-15%</p> <ul style="list-style-type: none"> a. Uji sterilitas b. Uji kesuburan c. Uji fisik (warna, permukaan media, volume, homogenitas, kepadatan) <p>Bobot: 7.5</p> <p>Skor:</p> <p>1 = melakukan uji sterilitas, kesuburan dan fisik yang tercatat</p> <p>½ = Jika uji kualitas hanya sebagian dan tercatat</p> <p>0 = tidak melakukan uji sterilitas, kesuburan dan fisik</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Bila laboratorium hanya melakukan pemeriksaan biakan dan uji kepekaan dengan media padat maka bobot = 15 • Bila laboratorium melakukan pemeriksaan biakan dan uji kepekaan dengan media padat dan cair maka bobot masing-masing 7,5 • Uji sterilitas dilakukan pada 5% dari seluruh botol media yang dibuat (tercatat) • Uji kesuburan menggunakan kuman control <i>M. fortuitum</i> (tercatat) • Uji fisik melakukan penilaian atas konsistensi warna, permukaan

	media, volume, homogenitas, kepadatan (tercatat)
<p>3. Pengamatan reagensia pada biakan dan uji kepekaan media cair.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Tanggal kadaluarsa • Uji fisik (kekeruhan dan warna) • Penggunaan bakteri kontrol <p>Bobot: 7.5</p> <p>Skor:</p> <p>1 = reagensia tidak kadaluarsa, bening, dan menggunakan bakteri kontrol, serta tercatat</p> <p>0 = reagensia kadaluarsa atau rusak</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Reagen kadaluarsa apabila penggunaan melampaui batas kadaluarsa. • Uji fisik mengamati reagensia secara visual • Bakteri kontrol sesuai standar
<p>4. Mengikuti PME uji banding kepekaan TB (DST) termasuk pembacaan dan pelaporan hasil uji kepekaan <i>M. tuberculosis</i> sesuai standar (10%).</p> <p>Bobot: 10</p> <p>Skor:</p> <p>1= Hasil uji banding baik</p> <p>0= Hasil uji banding tidak baik</p>	

Laboratorium dapat menerima tes panel apabila memenuhi syarat penilaian sebagai berikut:

Nilai kelulusan **minimal 71** dengan ketentuan nilai untuk:

- a. Dokumen Pemantapan mutu internal (SPO): nilai tidak kurang dari 3
- b. Tenaga Kerja kualifikasi analis D3 terlatih: nilai tidak kurang dari 5
- c. komponen sarana dan prasarana lengkap: nilai tidak kurang dari 15
- d. uji identifikasi: nilai tidak kurang dari 4
- e. Kuman kontrol: nilai tidak kurang dari 4

Contoh:

Jika laboratorium biakan dan uji kepekaan TBC saat assessmen mendapatkan nilai lebih dari 71, tetapi mempunyai nilai minimal kurang pada salah satu dari lima komponen di atas, maka akan diberi kesempatan untuk memperbaiki atau mendapat pembinaan dari LRN.

Lanjutan 2 Formulir TBC-06 (manual)

Hal. 2

No. Urut	Dirujuk/Diirim Oleh	Kriteria Terdaftar TBC RD	Lokasi Anatomi Penyakit	Total Skorng TBC Anak	Hasil Pemeriksaan Foto Toraks	Status HIV	Riwayat Diabetes Mellitus	Hasil Pemeriksaan Mikroskopis		Hasil Pemeriksaan Apert (UCM)	Hasil Pemeriksaan Bukan
								1	2		

Lanjutan 3 Formulir TBC-06 (manual)

Hlm. 3

No. Urut	Hasil Pemeriksaan Paket Standar Uji Kepekakan										Hasil Pemeriksaan LPA (Line Probe Assay) Jini 2									
	H Dosis Tinggi	H	Km	Cm	Lfk	Mfx Dosis Tinggi	Mfx	Invalid	MTB	Lfk	Mfx	Mfx Dosis Tinggi	Km	Ank	Cm	
13.	(123)	(134)	(145)	(156)	(167)	(178)	(189)	(200)	(211)	(222)	(233)	(244)	(255)	(266)	(277)	(288)	(299)	(310)	(321)	(332)

Lanjutan 4 Formulir TBC-06 (manual)

No. 4


		TBC-06 REKAMBUKA 2009/01/003				
* Untuk Tindakan Rutin		TBC-Sensitif Obat				
		TBC-Resistan Obat				
Jumlah Kasus TBC yang Tidak Mulai Pengobatan		Meninggal	Go to Follow Up			
TBC-Sensitif Obat						
TBC-Resistan Obat						
No. Urut	No Reg. Lab (TBC-04)	Hasil Diagnosis	Tindak Lanjut	Tempat Pengobatan	Tanggal Mulai Pengobatan TBC (Tg/Bh/Tm)	Keterangan (Disisi tempat pengamatan dengan Mikroskopis)
			Tindak Lanjut	Ditujuk ke (Nama fasilitas)		

Lampiran 12. Formulir Register TBC-05

A. TBC-05 manual

PENANGGULANGAN TBC NASIONAL		TBC.05 <small>INDONESIA 2020/EDISI 3</small>																																								
FORMULIR PERMOHONAN PEMERIKSAAN BAKTERIOLOGIS TBC																																										
Nama Fasyankes : _____ Kode Fasyankes : _____ No. Rekam Medis : _____ Nama Terduga/Pasien TBC : _____ No. Induk Kependudukan : _____ Jenis Kelamin : <input type="checkbox"/> Laki-laki <input type="checkbox"/> Perempuan Alamat lengkap : _____		Nama Dokter Pengirim : _____ No. Telp. Pasien : _____ No. BPJS : _____ Umur : _____ tahun																																								
Kabupaten/ Kota : _____ Provinsi : _____		Jenis Terduga/Pasien TBC <input type="checkbox"/> TBC SO <input type="checkbox"/> Anak <input type="checkbox"/> HIV <input type="checkbox"/> DM <input type="checkbox"/> TBC RO																																								
No. Identitas Sediaan Tanggal pengambilan contoh uji : _____ Tanggal pengiriman contoh uji : _____ Tanda tangan pembambil contoh uji : _____		Alasan Pemeriksaan : <input type="checkbox"/> Diagnosis TBC <input type="checkbox"/> Diagnosis TBC RO Pemantauan kemajuan pengobatan : Bulan ke : _____ Pemeriksaan ulang pasca pengobatan : Bulan ke : _____ No.Reg.TBC/TBC RO Fasyankes : _____ No.Reg.TBC/TBC RO Kab/ Kota : _____																																								
Jenis Pemeriksaan <input type="checkbox"/> Mikroskopis <input type="checkbox"/> Xpert (TCM) <input type="checkbox"/> LPA lini 2 <input type="checkbox"/> Biakan <input type="checkbox"/> Paket standar uji kepekaan	Lokasi Anatomi <input type="checkbox"/> Paru <input type="checkbox"/> Ekstraparu Lokasi : _____																																									
Contoh Uji <input type="checkbox"/> Dahak <input type="checkbox"/> Lainnya : _____	Secara visual dahak tampak (berilah v pada kotak) <table border="1" style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width:25%;"></td> <td style="width:25%; text-align: center;">Nanah lendir</td> <td style="width:25%; text-align: center;">Bercak darah</td> <td style="width:25%; text-align: center;">Air liur</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Sewaktu / Pagi*)</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Sewaktu / Pagi*)</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> </table> <small>*Uji yang sesuai</small>			Nanah lendir	Bercak darah	Air liur	Sewaktu / Pagi*)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Sewaktu / Pagi*)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																												
	Nanah lendir	Bercak darah	Air liur																																							
Sewaktu / Pagi*)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																							
Sewaktu / Pagi*)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																							
_____, 20.... (.....) Nama jelas dokter pengirim																																										
HASIL PEMERIKSAAN BAKTERIOLOGIS TBC																																										
No. Register Lab. (sesuai Buku Register Lab TBC.04) :																																										
Contoh uji*) <input type="checkbox"/> Sewaktu/Pagi	Tanggal Hasil Dilaporkan	<table style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th colspan="5" style="text-align: center;">Hasil Pemeriksaan Mikroskopis (BTA/lainnya)^{**)}</th> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">3+</td> <td style="text-align: center;">2+</td> <td style="text-align: center;">1+</td> <td style="text-align: center;">1-9^{***)}</td> <td style="text-align: center;">Neg</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> </table>	Hasil Pemeriksaan Mikroskopis (BTA/lainnya) ^{**)}					3+	2+	1+	1-9 ^{***)}	Neg	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																				
Hasil Pemeriksaan Mikroskopis (BTA/lainnya) ^{**)}																																										
3+	2+	1+	1-9 ^{***)}	Neg																																						
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																						
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																						
Contoh uji*) <input type="checkbox"/> Sewaktu/Pagi	Tanggal Hasil Dilaporkan	<table style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th colspan="7" style="text-align: center;">Hasil Pemeriksaan Xpert (TCM)^{**)}</th> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Neg</td> <td style="text-align: center;">Rif Sen</td> <td style="text-align: center;">Rif Res</td> <td style="text-align: center;">Rif indet</td> <td style="text-align: center;">Invalid</td> <td style="text-align: center;">Error</td> <td style="text-align: center;">No result</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> </table> <small>Ditisi bila ada ulangan Rif Res bagi pasien risiko rendah, Error, Invalid, No Result, Rif Index</small>	Hasil Pemeriksaan Xpert (TCM) ^{**)}							Neg	Rif Sen	Rif Res	Rif indet	Invalid	Error	No result	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>												
Hasil Pemeriksaan Xpert (TCM) ^{**)}																																										
Neg	Rif Sen	Rif Res	Rif indet	Invalid	Error	No result																																				
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																				
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																				
Contoh uji*) <input type="checkbox"/> Sewaktu/Pagi	Tanggal Hasil Dilaporkan	<table style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th colspan="8" style="text-align: center;">Hasil Pemeriksaan LPA Lini 2^{****)}</th> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Invalid^{***)}</td> <td style="text-align: center;">MTB</td> <td style="text-align: center;">Lfx</td> <td style="text-align: center;">Mfx</td> <td style="text-align: center;">Mfx DT</td> <td style="text-align: center;">Km</td> <td style="text-align: center;">Amk</td> <td style="text-align: center;">Cm</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td colspan="8" style="text-align: right;">Implikasi Klinis:</td> </tr> </table>	Hasil Pemeriksaan LPA Lini 2 ^{****)}								Invalid ^{***)}	MTB	Lfx	Mfx	Mfx DT	Km	Amk	Cm	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Implikasi Klinis:															
Hasil Pemeriksaan LPA Lini 2 ^{****)}																																										
Invalid ^{***)}	MTB	Lfx	Mfx	Mfx DT	Km	Amk	Cm																																			
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																			
Implikasi Klinis:																																										
Contoh uji*) <input type="checkbox"/> Sewaktu/Pagi	Tanggal Hasil Dilaporkan	<table style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th colspan="8" style="text-align: center;">Hasil Biakan^{**)}</th> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">L J</td> <td style="text-align: center;">3+</td> <td style="text-align: center;">2+</td> <td style="text-align: center;">1+</td> <td style="text-align: center;">1-9^{***)}</td> <td style="text-align: center;">Neg</td> <td style="text-align: center;">NTM</td> <td style="text-align: center;">KTM</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">MGIT</td> <td style="text-align: center;">Pos</td> <td style="text-align: center;">Neg</td> <td style="text-align: center;">NTM</td> <td style="text-align: center;">KTM</td> <td colspan="3"></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td colspan="3"></td> </tr> </table>	Hasil Biakan ^{**)}								L J	3+	2+	1+	1-9 ^{***)}	Neg	NTM	KTM	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	MGIT	Pos	Neg	NTM	KTM				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
Hasil Biakan ^{**)}																																										
L J	3+	2+	1+	1-9 ^{***)}	Neg	NTM	KTM																																			
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																			
MGIT	Pos	Neg	NTM	KTM																																						
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																						
Contoh Uji*) <input type="checkbox"/> Sewaktu/Pagi	Tanggal Hasil Dilaporkan	<table style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th colspan="11" style="text-align: center;">Hasil Paket Standar Uji Kepekaan^{****)}</th> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">H Dosis Tinggi</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;">Km</td> <td style="text-align: center;">Cm</td> <td style="text-align: center;">Lfx</td> <td style="text-align: center;">Mfx Dosis Tinggi</td> <td style="text-align: center;">Mfx</td> <td style="text-align: center;">--</td> <td style="text-align: center;">--</td> <td style="text-align: center;">--</td> <td style="text-align: center;">--</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> </table>	Hasil Paket Standar Uji Kepekaan ^{****)}											H Dosis Tinggi	H	Km	Cm	Lfx	Mfx Dosis Tinggi	Mfx	--	--	--	--	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>							
Hasil Paket Standar Uji Kepekaan ^{****)}																																										
H Dosis Tinggi	H	Km	Cm	Lfx	Mfx Dosis Tinggi	Mfx	--	--	--	--																																
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																
Tanda tangan pemeriksa (.....)		Mengetahui Dokter PJ pemeriksaan Lab (.....)																																								
<small>*) Ditisi sesuai dengan kode huruf sesuai identitas sediaan/waktu pengambilan dahak. **) Hasil pemeriksaan Mikroskopis, TCM, dan Biakan Beri tanda rumpuk (v) pada hasil pemeriksaan yang sesuai Hasil LPA Lini 2 (Invalid) Beri tanda rumpuk (v) bila hasil tidak dapat diinterpretasi Untuk hasil biakan, pilih salah satu metode yang digunakan disesuaikan dengan hasil yang didapat ke SBT Isi dengan jenis BTA (infeksius 2 BTA, 3 BTA, 3 BTA) / koloni yang ditemukan ***) Hasil Paket Standar Uji Kepekaan: Ditisi R jika resistan, dilisi S jika sensitif ****) Hasil Pemeriksaan LPA Lini 2 pada kotak MTB dilisi dengan D (detected) atau ND (not detected) *****) FQ dan SLID: dilisi dengan RD (resistance detected), RND (resistance not detected), RI (resistance inferred), IDT (indeterminate)</small>																																										

B. TBC-05 SITB (hal 1)



2101502329

PENANGGULANGAN TBC NASIONAL

TBC_05
INDONESIA 2020/REIT 3

FORMULIR PERMOHONAN PEMERIKSAAN BAKTERIOLOGIS TBC

Nama Fasyanke	: RS Umum Daerah Dr. Soebandi	Nama Dokter Pengirim	: Dr. Devi Sp.P
Kode Fasyanke	: 3509010		
No. Rekam Medis	:		
Nama Terduga	: WILDATUL JANNAH	No. Telp. Pasien	: 08135737399
No. Induk Kependudukan	: 3509065503000001	No. BPJS	:
Jenis Kelamin	: <input type="checkbox"/> laki-laki <input checked="" type="checkbox"/> Perempuan	Umur	: 21 Tahun
Alamat Lengkap	: CUKAH BAMBAN RT 001 RW 015 Tanggul Wetan Kec. Tanggul		
Kabupaten/Kota	: Kab. Jember	Jenis Terduga/Pasien TBC	
Provinsi	: Jawa Timur	<input type="checkbox"/> TBC RO <input checked="" type="checkbox"/> TBC RO Anak <input type="checkbox"/> HIV <input type="checkbox"/> DM	

No. Identitas Sediaan

21/93109180101/1/0269

Tanggal pengambilan contoh uji : 09/09/2021

Tanggal pengiriman contoh uji : 09/09/2021

Tanda tangan pembambil contoh uji : _____

Alasan Pemeriksaan :

Diagnosis TBC

Diagnosis Baseline TBC

Akhir pengobatan

Semantauan kemajuan pengobatan (Follow up) :

Bulan ke :

Pemeriksaan ulang ke - :

Pemeriksaan setelah selesai pengobatan :

Bulan ke :

No.Reg./TBC/TC RO Fasyanke : 0055

No.Reg./TBC/TC RO Kab/ Kota : _____

Jenis Pemeriksaan

Mikroskopis

Xpert (TCM)

Xpert (TCM) - XDR

LPA lini 1

LPA lini 2

Biakan

Paket standar uji kepekaan

Lokasi Anatomi

Paru

Ekstraparu

Lokasi: _____

Secara visual dahak tampak (berilah V pada kotak)

<p><input checked="" type="checkbox"/> Dahak</p> <p><input type="checkbox"/> Lainnya: Dahak</p>		Nanah lendir	Bercak darah	Air liur
Sewaktu / Pagi				
Sewaktu / Pagi				

* Lingkari yang sesuai



Jember, 09 September 2021



Dr. Devi Sp.P

HASIL PEMERIKSAAN BAKTERIOLOGIS TBC

No. Register Lab. (sesuai Buku Register Lab TBC.04) : _____

Contoh uji *	Tanggal Hasil Dilaporkan	Kode Unik TCM	Hasil Pemeriksaan Mikroskopis (BTA/lainnya) **										
<input checked="" type="checkbox"/> Pagi	11/09/2021		<table style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td>+++</td> <td>++</td> <td>+</td> <td>1-9 ***</td> <td>Neg</td> </tr> <tr> <td><input type="text"/></td> <td><input checked="" type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> </tr> </table>	+++	++	+	1-9 ***	Neg	<input type="text"/>	<input checked="" type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
+++	++	+	1-9 ***	Neg									
<input type="text"/>	<input checked="" type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>									
<input type="checkbox"/> Sewaktu / Pagi													

Contoh uji *	Tanggal Hasil Dilaporkan	Kode Unik TCM	Hasil Pemeriksaan Xpert (TCM) **														
<input type="checkbox"/> Sewaktu / Pagi		 <p>210150232921</p>	<table style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td>Neg</td> <td>Rif Sen</td> <td>Rif Res</td> <td>Rif Indet</td> <td>Invalid</td> <td>Error</td> <td>No result</td> </tr> <tr> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> </tr> </table>	Neg	Rif Sen	Rif Res	Rif Indet	Invalid	Error	No result	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Neg	Rif Sen	Rif Res	Rif Indet	Invalid	Error	No result											
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>											
<input type="checkbox"/> Sewaktu / Pagi		 <p>210150232922</p>															

Contoh uji *	Tanggal Hasil Dilaporkan	Kode Unik TCM XDR	Hasil Pemeriksaan Xpert (TCM) - XDR ****																								
<input type="checkbox"/> Sewaktu / Pagi		 <p>210150232991</p>	<table style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td>Neg</td> <td>H Low</td> <td>H</td> <td>PQ Low</td> <td>PQ</td> <td>Invalid</td> </tr> <tr> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> </tr> <tr> <td>Ank</td> <td>Rn</td> <td>Cm</td> <td>Eto</td> <td>Error</td> <td>No Result</td> </tr> <tr> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> </tr> </table>	Neg	H Low	H	PQ Low	PQ	Invalid	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Ank	Rn	Cm	Eto	Error	No Result	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Neg	H Low	H	PQ Low	PQ	Invalid																						
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>																						
Ank	Rn	Cm	Eto	Error	No Result																						
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>																						
<input type="checkbox"/> Sewaktu / Pagi		 <p>210150232992</p>																									

TBC-05 - 2101502329 - WILDATUL JANNAH

Hal 1 dari 2

Lanjutan TBC-05 SITB (hal 2)

Contoh uji *)	Tanggal Hasil Dilaporkan	Hasil Pemeriksaan LPA Lini 1			
		Hasil Uji			
<input type="checkbox"/> Sewakit / Pagi		Invalid	MTB	H (isoniazid)	R (rifampin)
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
		Keterangan : Kolom diisi sesuai singkatan di bawah ini D = Detected ND = Not Detected RD = Resistance detected MTB = Pos/Reg RI = Resistance Inferred IDT = Indeterminate RND = Resistance Not Detected			

Contoh uji *)	Tanggal Hasil Dilaporkan	Hasil Pemeriksaan LPA Lini 2							
		Hasil Uji							
<input type="checkbox"/> Pagi	14/09/2021	Invalid	MTB	Lfx	Mfx	Mfx DT	Km	Amk	Cm
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
		Lfx dan Mfx efektif Km, Amk, Cm kemungkinan efektif							
		Keterangan : Kolom diisi sesuai singkatan di bawah ini D= Detected ND = Not Detected RD = Resistance detected RI = Resistance Inferred IDT = Indeterminate RND = Resistance Not Detected							

Contoh uji *)	Tanggal Hasil Dilaporkan	Metode Uji	Hasil Biakan **)							
			Hasil Uji							
<input type="checkbox"/> Pagi	24/09/2021	NGIT	Pos	Neg	NTM	KTM	TDL			
			<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>			
<input type="checkbox"/> Pagi		LJ	3+	2+	1+	1-9 ****)	Neg	NTM	KTM	TDL
			<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Contoh uji *)	Tanggal Hasil Dilaporkan	Hasil Paket Standar Uji Kepekakan *****)											
		H Dosis Tinggi	H	Km	Cm	Lfx	Mfx Dosis Tinggi	Mfx	Amk	Bdq	Lsd	Cfs	Z
<input type="checkbox"/> Pagi	05/10/2021	S				S	S		S	S	S	S	S

Tanda tangan pemeriksa: (TYADA) Mengelabuh Dokter PJ pemeriksaan Lab (dr. Titiek S., M.Ked.Klin, Sp.NE)

- *) Diisi sesuai dengan kode huruf sesuai identitas media/waktu pengambilan dahak.
- ***) Hasil pemeriksaan Mikroskopik, TCM, dan Biakan: Beri tanda rumput pada hasil pemeriksaan yang sesuai
- ****) Isi dengan jumlah ura misalnya 3 ura, 7 ura / koloni yang ditemukan
- *****) Beri tanda rumput sesuai hasil pemeriksaan TCM untuk kolom neg/invalid/no result/error
- Kolom PQ/Amk/Pm/Cm/nto isi sesuai hasil dengan pilihan R jika resisten, S jika sensitif, dan IDT untuk indeterminate.
- Shouse untuk isian H dan PQ terdapat 2 hasil pemeriksaan yaitu dosis standar dan dosis rendah (H low dan pg low), diisi dengan R jika terjadi resisten, S jika sensitive, dan IDT untuk indeterminate.
- *****) Hasil Uji Kepekakan: Diisi R jika resisten, diisi S jika sensitif
- (-) isi sesuai dengan jenis OAT yg digunakan dalam pemeriksaan dan hasilnya R jika resisten dan S jika sensitif

B. TBC-04 Rujukan (manual)

Rev. 1

PEMANGGILANGAN TBC NASIONAL

REGISTER LABORATORIUM TBC UNTUK RUJUKAN TES CEPAT, BAHAN DAN UJI KEPEKAKAN

Nama Laboratorium Pemeriksa :
 Kode Empranfas :
 Kabupaten/Kota :
 Tahun :

No. Reg Lab (01)	No. Identitas Sediaan (02)	No. Rekam Medis (03)	Nama Lengkap Pasien (04)	NIK (Nomor Induk Kependudukan) (05)	Umur (06)	Jenis Kelamin (07)	Alamat Lengkap (08)

Lanjutan 2 TBC-04 Rujukan (manual)

filo_2

No Reg Lab	Nama Fasilitas Kesehatan Asal Contoh Uji	Alasan Pemeriksaan		Pemeriksaan Mikroskopis dan Spert (KDM)					
		Diagnosis	Follow Up Tujuan ke-	Jenis Contoh Uji	Tgl Contoh Uji Diterima	Tgl Hasil Dilaporkan	Hasil Pemeriksaan Mikroskopis 1	Hasil Pemeriksaan Mikroskopis 2	Hasil Pemeriksaan Spert (KDM)

Lampiran 14. Laporan IKU Laboratorium Biakan TBC

a. IKU Lab Biakan TBC – sheet data dasar lab biakan TBC

Laporan file ke blknubtt@yahoo.co.id cc : timlab.subditfb@gmail.com DATA DASAR LABORATORIUM BIAKAN TB ALAT, SUMBER DAYA MANUSIA, DAN MEDIA																									
Nama laboratorium*																									
Provinsi	:	0																							
Kabkota	:	0																							
Pertanggung Jawab	:	Triwulan I	Tahun	2018																					
Data Dasar Laboratorium Biakan TB Media*																									
Kategori Media	Metode yang digunakan	Uji Sterilitas				Media Padat			Uji Fisik			Media Cair			Uji Kepekaan										
		Uji Kebutuhan	Uji Warna	Uji Konsistensi	Uji Homogenitas	Uji Perwujudan Media	Uji Volume	Uji Homogenitas	Uji Kelembutan	Uji Konsistensi	Uji Warna	Tanggal Kadaluarsa	Uji Ketahanan	Penggunaan bakteri kontrol	Uji Identifikasi	INH	Km	Cm	OFI	Mfx			
TW 1											dd/mm/yy														
TW 2											dd/mm/yy														
TW 3											dd/mm/yy														
TW 4											dd/mm/yy														
Data Dasar Laboratorium Biakan TB Sumber Daya Manusia*																									
Kategori SDM	Jumlah SDM	Terlatih Mikroskopis	Terlatih Biakan	Terlatih Biakan dan Uji Kepekaan	Nama Pemanggang Jawab Lab Biakan atau Biakan dan Uji Kepekaan											No. I/P Pemanggang Jawab									
TW 1	0	0	0	0																					
TW 2	0	0	0	0																					
TW 3	0	0	0	0																					
TW 4	0	0	0	0																					
Data Dasar Laboratorium Biakan TB Alat*																									
Kategori Peralatan	Jumlah	Kondisi	Type	Kapasitas	Phase yang melakukakan kontrol*	Biocontaineer**	KETERANGAN																		
MGIT	0			4l/mm/yy																					
Biological safety cabinet*	0			4l/mm/yy																					
Autoclave	0			4l/mm/yy																					
Grookaf	0			4l/mm/yy																					
Oven blower (Inspirator)	0			4l/mm/yy																					
Biological safety cabinet	0			4l/mm/yy																					
Freezer -20°C	0			4l/mm/yy																					
Freezer -80°C	0			4l/mm/yy																					
Biosafety cabinet**	0			4l/mm/yy																					
Sentrifus**	0			4l/mm/yy																					
pH meter	0			4l/mm/yy																					
Inkubator 35°-37° C	0			4l/mm/yy																					
Water Bath	0			4l/mm/yy																					

b. IKU Lab Biakan TBC – Sheet data sampel LJ

Laporan RIF MMSUBH@Zakara:cc:7 0 cc: timbak-subh@zakaracp.com																	
DATA DASAR LABORATORIUM BIAKAN TB																	
Nama Laboratorium* : 0																	
Provinsi : 0																	
Kabupaten : 0																	
Kecamatan : 0																	
Tahun : 2018																	
Nama Petugas : 0																	
Batas	Jumlah Sampel		Jumlah Pemeriksaan Biakan		Jumlah Tabung Terkontaminasi	Ustek Sampel Diagnostik M. Tuberculosis						Jumlah Pemeriksaan Biakan LJ	Jumlah Sampel dengan hasil keifer 4-8				
	Diagno sis	Folio w-Up	Diagno sis	w-Up		Jumlah BTA	Jumlah BTA (+)	Jumlah BTA (-)	Jumlah BTA (+)	Jumlah BTA (-)	Jumlah BTA (+)			Jumlah BTA (-)	Diagno sis	Biakan	Diagno sis
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)	(14)	(15)	(16)	(17)	(18)
Januari	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Februari	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Maret	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
April	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mei	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Juni	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Juli	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Agustus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
September	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Oktober	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
November	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Desember	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total TV 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total TV 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total TV 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total TV 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Keterangan :	1. Jumlah sampel	2. Jumlah pemeriksaan biakan	3. Jumlah cabang diinkubasi	4. Jumlah cabang terkontaminasi	5. Jumlah BTA (+)	6. Jumlah BTA (-)	7. Jumlah BTA (+) dan Biakan (+)	8. Jumlah BTA (-) dan Biakan (-)	9. Jumlah BTA (+) dan Biakan (+)	10. Jumlah BTA (-) dan Biakan (-)	11. Jumlah pemeriksaan biakan (+) M	12. Jumlah pemeriksaan biakan (+) N	13. Sampel dengan hasil keifer 4-8	
	: Jumlah sampel yang diterima di laboratorium (sodium, diateri panas, dan lainnya) yang akan dilakukan pemeriksaan biakan, dipisahkan untuk sampel diagnostik dan follow-up	: Jumlah pemeriksaan biakan (sodium, diateri panas, dan lainnya) yang dilakukan berdasarkan sampel yang diterima (dari semua jumlah pemeriksaan yang dilakukan oleh masing-masing laboratorium)	: Jumlah tabung yang diinkubasikan pada uji pemeriksaan biakan metode LJ (dianggap untuk sampel diagnostik dan follow-up)	: Jumlah tabung yang terkontaminasi pada pemeriksaan biakan metode LJ (dianggap untuk sampel diagnostik dan follow-up)	: Jumlah pemeriksaan BTA dengan hasil (+) yang dilakukan pemeriksaan biakan, hanya untuk sampel diagnostik	: Jumlah pemeriksaan BTA dengan hasil (-) yang dilakukan pemeriksaan biakan, hanya untuk sampel diagnostik	: Jumlah pemeriksaan BTA dengan hasil (+) dan pemeriksaan biakan (+), hanya untuk sampel diagnostik	: Jumlah pemeriksaan BTA dengan hasil (-) dan pemeriksaan biakan (-), hanya untuk sampel diagnostik	: Jumlah pemeriksaan BTA dengan hasil (+) dan pemeriksaan biakan (+), hanya untuk sampel diagnostik	: Jumlah pemeriksaan BTA dengan hasil (-) dan pemeriksaan biakan (-), hanya untuk sampel diagnostik	: Jumlah pemeriksaan biakan dengan hasil (+) (hanya untuk identifikasi NTM)	: Jumlah pemeriksaan biakan dengan hasil (+) (hanya untuk identifikasi NTM)	: Jumlah pemeriksaan biakan dengan hasil (+) (hanya untuk identifikasi NTM)	: Total sampel yang telah mempunyai hasil pemeriksaan dan dilaporkan dalam waktu 48 minggu

c. IKU Lab Biakan TBC – Sheet data sampel MGIT

DATA DASAR LABORATORIUM BIAKAN TB													
Nama Laboratorium													
Kategori													
Kalkulasi													
Periode Pelaporan													
Tahun 2018													
DATA SAMPEL MEDIA CAIR (MGIT)													
Bulan	Jumlah Sampel		Pemeriksaan Biakan		Jumlah Tabung Terkontaminasi		Unuk Sampel Diagnosis, <i>M. Tuberculosis</i>						Jumlah Pemeriksaan Biakan (+) dengan hasil kellar 2-6 minggu
	Diagnosis	FCS	Diagnosis	FCS	Jumlah h BT	Jumlah BT (+) dan BT (-)	Jumlah BT (+) dan BT (-)	Jumlah BT (+) dan BT (-)	Jumlah BT (+) dan BT (-)	Jumlah BT (+) dan BT (-)	Jumlah BT (+) dan BT (-)	Jumlah BT (+) dan BT (-)	
(0)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)
Januari	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Februari	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Maret	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
April	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mei	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Juni	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Juli	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Agustus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
September	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Oktober	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
November	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Desember	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total IV 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total IV 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total IV 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total IV 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Keterangan :	Jumlah sampel yang diterima di laboratorium (positum, ekstra paru, dan lainnya) yang akan dilakukan pemeriksaan biakan, dipisahkan untuk sampel diagnosis dan <i>Walkway-up</i>
1. Jumlah sampel	Jumlah pemeriksaan biakan (positum, ekstra paru, dan lainnya) yang dilakukan berdasarkan sampel yang diterima (diti sesuai jumlah pemeriksaan yang dilakukan oleh masing-masing laboratorium)
2. Jumlah pemeriksaan biakan	Jumlah tabung yang diinkubasi pada saat pemeriksaan biakan metode MGIT (digabung untuk sampel diagnosis dan <i>Walkway-up</i>)
3. Jumlah tabung terkontaminasi	Jumlah pemeriksaan BTA dengan hasil (+) yang dilakukan pemeriksaan biakan, hanya untuk sampel diagnosis
4. Jumlah BTA (+)	Jumlah pemeriksaan BTA dengan hasil (+) dan pemeriksaan biakan, hanya untuk sampel diagnosis
5. Jumlah BTA (-)	Jumlah pemeriksaan BTA dengan hasil (-) dan pemeriksaan biakan, hanya untuk sampel diagnosis
6. Jumlah BTA (+) dan Biakan (+)	Jumlah pemeriksaan biakan dengan hasil (+) dan pemeriksaan biakan (+), hanya untuk sampel diagnosis
7. Jumlah BTA (+) dan Biakan (-)	Jumlah pemeriksaan biakan dengan hasil (+) dan pemeriksaan biakan (-), hanya untuk sampel diagnosis
8. Jumlah BTA (-) dan Biakan (+)	Jumlah pemeriksaan biakan dengan hasil (-) dan pemeriksaan biakan (+), hanya untuk sampel diagnosis
9. Jumlah BTA (-) dan Biakan (-)	Jumlah pemeriksaan biakan dengan hasil (-) dan pemeriksaan biakan (-), hanya untuk sampel diagnosis
10. Jumlah pemeriksaan biakan (+)	Jumlah pemeriksaan biakan dengan hasil (+) khusus untuk identifikasi MTB
11. Jumlah pemeriksaan biakan (+)	Jumlah pemeriksaan biakan dengan hasil (+) khusus untuk identifikasi NTM
12. Sampel dengan hasil keluar 4-8	Total sampel yang telah mempunyai hasil pemeriksaan dan dipaparkan dalam waktu 4-8 minggu

d. IKU Lab Biakan TBC – IKU TW1 /TW2/ TW3/TW4 (media LJ)

IKU BIAKAN PADA MEDIA PADAT (LJ)						
No	Jenis Indikator	Indikator	Pembias	Pasabah	Interpretasi	
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	
1	Tingkat Positifitas Biakan setek Diagnostik pada Media Padat	Jumlah dan proporsi biakan positif dari specimen diagnostik pada media padat	Jumlah specimen diagnostik dengan hasil biakan positif untuk MTB dan MTM	Jumlah specimen diagnostik yang diproses dengan biakan	15 - 20% #0/100	
2	Tingkat Positifitas Biakan setek Spesimen (MTB dan MTM) pada Media Padat	Jumlah dan proporsi biakan positif dari specimen /follow-up dengan hasil biakan MTM	Jumlah specimen /follow-up dengan hasil biakan positif untuk MTB dan MTM	Jumlah specimen /follow-up yang diproses dengan biakan	15 - 20% #0/100	
3	Tingkat Positifitas Biakan MTB setek Spesimen (biaya MTB) pada Media Padat	Jumlah dan proporsi biakan positif dari specimen diagnostik (biaya MTB) pada media padat	Jumlah specimen diagnostik dengan hasil biakan positif untuk MTB	Jumlah specimen diagnostik dengan biakan	10 - 15% #0/100	
4	Tingkat Positifitas Biakan MTB setek Spesimen (biaya MTB) pada Media Padat	Jumlah dan proporsi biakan positif dari specimen /follow-up (biaya MTB) pada media padat	Jumlah specimen /follow-up dengan hasil biakan positif untuk MTB	Jumlah specimen /follow-up yang diproses dengan biakan	10 - 15% #0/100	
5	Recovery Rate Biakan pada Media Padat	Jumlah spesimen diagnostik dengan hasil biakan positif untuk MTB pada media	Jumlah specimen BTA positif dengan hasil biakan positif MTB pada media	Jumlah specimen diagnostik BTA positif yang diproses biakan pada media	85 - 90% #0/100	
6	Recovery Rate Biakan pada Media Padat	Jumlah dan proporsi biakan positif dari specimen diagnostik dengan hasil biakan positif MTB pada media	Jumlah specimen BTA positif dengan hasil biakan positif MTB pada media	Jumlah specimen diagnostik BTA positif yang diproses biakan dengan media	20 - 30% #0/100	
7	Angka Kontaminasi Biakan pada Media Padat	Jumlah dan proporsi biakan positif yang menyebabkan hasil yang tidak dapat ditinterpretasikan	Jumlah tabung yang kontaminasi setelah dimolokulai pada media	Jumlah tabung yang dimolokulai pada media	3 - 5% #0/100	
8	TAT Biakan pada Media Padat	Tare waktu/Time (TAT) Laboratorium pada Biakan Padat	Hasil biakan pada media padat yang dilaporkan dalam 4 - 6 minggu	Total sampel biakan pada media padat yang diterima	90% #0/100	
<p>Interpretasi : best peragaan segegas capaian min ku masing-masing monstor yang dihasilkan sebagai target interpretasi monstor</p> <p>LRN : Media dan biakan biakan</p> <p>LRN : Ditinjau oleh Dokter Sarabany sangat membuktikan semua hasil kepada masing-masing laboratorium biakan.</p>						

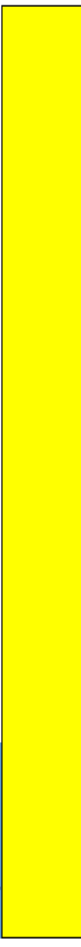
Lanjutan - IKU Lab Biakan TBC – IKU TW1/TW2/TW3/TW4 (media MGIT)

IKU BIAKAN PADA MEDIA CAIR (MGIT)								
No	Jenis Indikator	Indikator	Deskripsi			Target	IKU	Interpretasi*
			Pembilang	Penyebut	Target			
1	Tingkat Positifitas Biakan untuk Spesimen Diagnostik pada Media Cair	Jumlah dan proporsi biakan positif dari spesimen diagnostik (MTB dan NTM) pada media cair	Jumlah spesimen diagnostik dengan hasil biakan positif untuk MTB dan NTM	Jumlah spesimen diagnostik yang diproses dengan biakan	0	15 - 20%	ND/0/0	(6)
2	Tingkat Positifitas Biakan untuk Spesimen Follow Up pada Media Cair	Jumlah dan proporsi biakan positif dari spesimen follow up (MTB dan NTM) pada media cair	Jumlah spesimen follow up dengan hasil biakan positif untuk MTB dan NTM	Jumlah spesimen follow up yang diproses dengan biakan	0	15 - 20%	ND/0/0	
3	Tingkat Positifitas Biakan MTB untuk Spesimen Diagnostik pada Media Cair	Jumlah dan proporsi biakan positif dari spesimen diagnostik (banyak MTB) pada media cair	Jumlah spesimen diagnostik dengan hasil biakan positif untuk MTB	Jumlah spesimen diagnostik yang diproses dengan biakan	0	10 - 15%	ND/0/0	
4	Tingkat Positifitas Biakan NTM untuk Spesimen Follow Up pada Media Cair	Jumlah dan proporsi biakan positif dari spesimen follow up (banyak NTM) pada media cair	Jumlah spesimen follow up dengan hasil biakan positif untuk MTB	Jumlah spesimen follow up yang diproses dengan biakan	0	10 - 15%	ND/0/0	
5	Recovery Rate Biakan pada Media Cair	Jumlah dan proporsi spesimen diagnostik ETA positif dengan hasil biakan positif MTB pada media cair	Jumlah spesimen ETA positif dengan hasil biakan positif MTB pada media cair	Jumlah spesimen diagnostik ETA positif yang diproses biakan pada media cair	0	95 - 98%	ND/0/0	
6	Non Recovery Rate Biakan pada Media Cair	Jumlah dan proporsi spesimen diagnostik ETA negatif dengan hasil biakan positif MTB pada media cair	Jumlah spesimen ETA negatif dengan hasil biakan positif MTB pada media cair	Jumlah spesimen diagnostik ETA negatif yang diproses biakan dengan media cair	0	20 - 30%	ND/0/0	
7	Angka Kontaminasi Biakan pada Media Cair	Jumlah dan proporsi biakan cair yang terkontaminasi dan menyebabkan hasil yang tidak dapat diinterpretasikan	Jumlah tabung yang terkontaminasi setelah diinokulasi pada media cair	Jumlah tabung yang diinokulasi pada media cair	0	8 - 10%	ND/0/0	
8	TAT Biakan pada Media Cair	Zona growth time pada Biakan Cair	Hasil biakan pada media cair yang dilaporkan dalam 2 - 6 minggu	Total sampel biakan pada media cair yang diteliti	0	90%	ND/0/0	
* Interpretasi : error pengisian wadah kultur untuk masing masing nomor yang aman untuk setiap target; interpretasi ambigu : hasil yang tidak dapat diinterpretasikan; IRN : Nilai oleh BBIK Surabaya saat menerima media balik kepada masing-masing laboratorium biakan.								

e. IKU Lab Biakan TBC – Summary IKU (media L)

Nama Laboratorium : Alamat : Kabupaten : Periode Pelaporan : 2018 Lapor ke : DAFTARLAB@yah.co.id cc: timlab_sukdirib@umail.com DATA DASAR LABORATORIUM BIAKAN TB						
No	Jenis Indikator	Indikator	Deskripsi		Target	IKU
			Pembilang (4)	Penyebut (5)		
1	Tingkat Infektivitas Biakan etek Spesimena Diagnostik pada Media Padat	Jumlah dan persentase biakan positif dari spesimen diagnostik (MTB dan MTM) pada media padat.	Jumlah spesimen diagnostik dengan hasil biakan positif untuk MTB dan MTM	Jumlah spesimen diagnostik yang diproses dengan biakan	15 - 20%	#D/M/O/I
2	Positivitas etek Spesimena <i>Tubercle Up</i>	Jumlah dan persentase biakan positif dari spesimen <i>Tubercle Up</i> (MTB dan MTM) pada media padat.	Jumlah spesimen <i>Tubercle Up</i> dengan hasil biakan positif untuk MTB dan MTM	Jumlah spesimen <i>Tubercle Up</i> yang diproses dengan biakan	15 - 20%	#D/M/O/I
3	Positivitas etek Spesimena <i>Tubercle Up</i>	Jumlah dan persentase biakan positif dari spesimen diagnostik (hanya MTB) pada media padat.	Jumlah spesimen diagnostik dengan hasil biakan positif untuk MTB	Jumlah spesimen diagnostik yang diproses dengan biakan	10 - 15%	#D/M/O/I
4	Positivitas etek Spesimena <i>Tubercle Up</i>	Jumlah dan persentase biakan positif dari spesimen <i>Tubercle Up</i> (hanya MTB) pada media padat.	Jumlah spesimen <i>Tubercle Up</i> dengan hasil biakan positif untuk MTB	Jumlah spesimen <i>Tubercle Up</i> yang diproses dengan biakan	10 - 15%	#D/M/O/I
5	Kecepatan Rase Biakan pada Media Padat	Jumlah dan persentase spesimen diagnostik ET A positif dengan hasil biakan positif MTB pada media padat	Jumlah spesimen ET A positif dengan hasil biakan positif MTB pada media padat	Jumlah spesimen diagnostik ET A positif yang diproses dengan media padat	85 - 90%	#D/M/O/I
6	Kecepatan Rase Biakan pada Media Padat	Jumlah dan persentase spesimen diagnostik ET A negatif dengan hasil biakan positif MTB pada media padat	Jumlah spesimen ET A negatif dengan hasil biakan positif MTB pada media padat	Jumlah spesimen diagnostik ET A negatif yang diproses dengan media padat	20 - 30%	#D/M/O/I
7	Kontaminasi Media Padat	Jumlah dan persentase terkontaminasi setelah menyebarkan hasil yang tidak dapat diinterpretasikan	Jumlah tabung yang terkontaminasi setelah diinkubasi pada media padat	Jumlah tabung yang diinkubasi pada media padat	3 - 5%	#D/M/O/I
8	TAT Biakan pada Media Padat	Waktu rata-rata untuk terdeteksi biakan pada Biakan Padat	Jumlah biakan pada media padat yang terdeteksi dalam 4 - 8 minggu	Total sampel biakan pada media padat yang diperiksa	90%	#D/M/O/I

Kesimpulan oleh LRM :



Lanjutan IKU Lab Blakan TBC – Summary IKU (media MGIT)

IKU BIAKAN PADA MEDIA CAIR (MGIT)						
No	Jenis Indikator	Indikator	Deskripsi		Target	IKU
			Pembilang (4)	Penyebut (5)		
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
1	Tingkat Positifitas Biakan uetek Specimens Diagnostik pada Tingkat	Jumlah dan proporsi biakan positif dari specimen diagnostik (MTB dan MTM) pada medis cair Jumlah dan proporsi biakan positif dari specimen <i>follow-up</i> (MTB dan MTM) pada medis cair	Jumlah specimen diagnostik dengan hasil biakan positif untuk MTB dan MTM	0	15 – 20%	#D/M/O/I
2	Positifitas Biakan uetek Specimen <i>Follow Up</i> pada Tingkat	Jumlah dan proporsi biakan positif dari specimen diagnostik (hanya MTB) pada medis cair Jumlah dan proporsi biakan positif dari specimen diagnostik (hanya MTB) pada medis cair	Jumlah specimen diagnostik dengan hasil biakan positif untuk MTB	0	15 – 20%	#D/M/O/I
3	Positifitas Biakan MTB uetek Specimens Diagnostik pada Tingkat	Jumlah dan proporsi biakan positif dari specimen <i>follow-up</i> (hanya MTB) pada medis cair	Jumlah specimen <i>follow-up</i> dengan hasil biakan positif untuk MTB	0	10 – 15%	#D/M/O/I
4	Positifitas Biakan MTB uetek Specimen <i>Follow Up</i> pada Tingkat	Jumlah dan proporsi specimen diagnostik biakan positif dengan hasil biakan positif (hanya MTB) pada medis cair	Jumlah specimen diagnostik dengan biakan	0	15 – 20%	#D/M/O/I
5	Recovery Rate Biakan pada Media Cair	Jumlah dan proporsi specimen diagnostik BT A positif dengan hasil biakan positif MTB pada medis cair	Jumlah specimen BT A positif dengan hasil biakan positif MTB pada medis cair	0	95 – 98%	#D/M/O/I
6	Non Recovery Rate Biakan pada Media Cair	Jumlah dan proporsi specimen diagnostik BT A negatif dengan hasil biakan positif MTB pada medis cair	Jumlah specimen BT A negatif dengan hasil biakan positif MTB pada medis cair	0	20 – 30%	#D/M/O/I
7	Angka Kontaminasi Biakan pada Media Cair	Jumlah tabung yang terkontaminasi dan menyebabkan hasil yang tidak dapat diinterpretasikan	Jumlah tabung yang terkontaminasi setelah dimokusasi pada medis cair	0	8 – 10%	#D/M/O/I
8	TAT Biakan pada Media Cair	Hasil biakan pada medis cair Laboratorium pada Blakan Cair	Hasil biakan pada medis cair yang dilaporkan dalam 2 – 6 minggu	0	90%	#D/M/O/I

Kecimpasan oleh LRM :



Direktorat Jenderal Pencegahan dan Pengendalian Penyakit
Kementerian Kesehatan
Republik Indonesia

Akses petunjuk teknis pemeriksaan laboratorium TBC dapat melalui :
bit.ly/KIETBINDONESIA

ISBN 978-623-301-332-1





Direktorat Jenderal Pencegahan dan Pengendalian Penyakit
Kementerian Kesehatan
Republik Indonesia

Akses petunjuk teknis pemeriksaan laboratorium TBC dapat melalui :
bit.ly/KIETBINDONESIA

ISBN 978-623-301-332-1



9 786233 013321



tbc.indonesia



@TBIndonesia



www.tbindonesia.or.id



TB Indonesia



TB Indonesia