Kementerian Kesehatan
Direktorat Jenderal Kesehatan Lanjutan
Jalan H.R. Rasuna Said Blok X-5 Kavling 4-9
Jakarta Selatan 12950
(021) 5201590 (hunting)
https://keslan.kemkes.go.id

KEPUTUSAN DIREKTUR JENDERAL KESEHATAN LANJUTAN
NOMOR HK.02.02/D/1072/2026
TENTANG
PANDUAN PEMERIKSAAN *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)
UNTUK DETEKSI PATOGEN PENYEBAB INFEKSI
DI FASILITAS PELAYANAN KESEHATAN

DENGAN RAHMAT TUHAN YANG MAHA ESA

DIREKTUR JENDERAL KESEHATAN LANJUTAN,

Menimbang :

a. bahwa dalam rangka mendukung pengendalian resistensi antimikroba, pencegahan dan pengendalian infeksi, serta peningkatan mutu pelayanan Kesehatan, diperlukan panduan pemeriksaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR);
b. bahwa pemeriksaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR*)* merupakan metode diagnostik molekuler yang penting dalam mendeteksi patogen penyebab infeksi secara cepat, sensitif, dan spesifik;
c. bahwa berdasarkan pertimbangan sebagaimana dimaksud dalam huruf a dan b, perlu menetapkan Keputusan Direktur Jenderal Kesehatan Lanjutan tentang Panduan Pemeriksaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk Deteksi Patogen Penyebab Infeksi di Fasilitas Pelayanan Kesehatan;

Mengingat :

1. Undang-Undang Nomor 17 Tahun 2023 tentang Kesehatan (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2023 Nomor 105, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 6887);

2. Peraturan Pemerintah Nomor 28 Tahun 2024 tentang Peraturan Pelaksana Undang-Undang Nomor 17 Tahun 2023 tentang Kesehatan (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2024 Nomor 135, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 6952);
3. Peraturan Presiden Nomor 12 Tahun 2025 tentang Rencana Pembangunan Jangka Menengah Nasional 2025-2029 (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2025 Nomor 19);
4. Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 8 Tahun 2015 tentang Program Pengendalian resistansi Antimikroba Di Rumah Sakit (Berita Negara Republik Indonesia Tahun 2015 Nomor 334);
5. Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 11 Tahun 2017 tentang Keselamatan Pasien (Berita Negara Republik Indonesia Tahun 2017 Nomor 308);
6. Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 27 Tahun 2017 tentang Pedoman Pencegahan dan Pengendalian Infeksi di Fasilitas Pelayanan Kesehatan (Berita Negara Republik Indonesia Tahun 2017 Nomor 857);
7. Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 28 Tahun 2021 tentang Pedoman Penggunaan Antibiotik (Berita Negara Republik Indonesia Tahun 2021 Nomor 1116);
8. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor HK.01.07/MENKES/1596/2024 tentang Standar Akreditasi Rumah Sakit.

MEMUTUSKAN:

Menetapkan : KEPUTUSAN DIREKTUR JENDERAL KESEHATAN LANJUTAN TENTANG PANDUAN PEMERIKSAAN *POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)* UNTUK DETEKSI PATOGEN PENYEBAB INFEKSI DI FASILITAS PELAYANAN KESEHATAN

KESATU : Menetapkan Panduan Pemeriksaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR*)* untuk Deteksi Patogen Penyebab Infeksi di Fasilitas Pelayanan Kesehatan sebagaimana tercantum dalam Lampiran yang merupakan bagian tidak terpisahkan dari Keputusan Direktur Jenderal ini.

KEDUA : Panduan sebagaimana dimaksud dalam Diktum KESATU digunakan sebagai acuan bagi rumah sakit, laboratorium kesehatan, dan fasilitas pelayanan kesehatan lainnya dalam pelaksanaan pemeriksaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk kepentingan diagnosis, surveilans, dan pengendalian infeksi.

KETIGA : Panduan ini mendukung pelaksanaan Program Pengendalian Resistansi Antimikroba (PPRA), Pencegahan dan Pengendalian Infeksi (PPI), serta sistem surveilans penyakit infeksi.

KEEMPAT : Keputusan Direktur Jenderal ini mulai berlaku pada tanggal ditetapkan.

Ditetapkan di Jakarta
pada tanggal 18 Maret 2026

DIREKTUR JENDERAL KESEHATAN LANJUTAN,

ttd.

AZHAR JAYA

Salinan sesuai dengan aslinya
Ketua Tim Kerja Hukum
Sekretariat Direktorat Jenderal Kesehatan Lanjutan

Rico Mardiansyah, SH, MH
NIP 198603192010121004

LAMPIRAN
KEPUTUSAN DIREKTUR JENDERAL
KESEHATAN LANJUTAN
NOMOR HK.02.02/D/1072/2026
TENTANG
PANDUAN PEMERIKSAAN *POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)* UNTUK DETEKSI PATOGEN PENYEBAB INFEKSI DI FASILITAS PELAYANAN KESEHATAN

PANDUAN PEMERIKSAAN *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR) UNTUK DETEKSI PATOGEN PENYEBAB INFEKSI DI FASILITAS PELAYANAN KESEHATAN

BAB I
PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Resistansi antimikroba (*Antimicrobial Resistance* -AMR) merupakan ancaman serius bagi kesehatan masyarakat global, termasuk Indonesia. Penyebab utama resistansi antimikroba adalah penggunaan antimikroba yang tidak tepat. Ketika antimikroba digunakan secara tidak tepat, mikroorganisme dapat mengembangkan resistansi terhadap obat-obatan tersebut, sehingga pengobatan menjadi tidak efektif. Dampak resistansi antimikroba sangat besar, meliputi penanganan infeksi yang lebih sulit, peningkatan biaya pengobatan, dan peningkatan angka kematian. Oleh karena itu, pengendalian AMR sangat penting untuk dilakukan.

Strategi pengendalian AMR, mencakup penggunaan antibiotik secara bijak, pencegahan infeksi, pengembangan antibiotik baru, serta pendidikan dan kesadaran masyarakat. Penggunaan antibiotik yang bijak melibatkan pemilihan antibiotik yang tepat indikasi, tepat dosis, dan tepat durasi. Sementara itu, pencegahan infeksi melibatkan penerapan protokol pengendalian infeksi yang ketat, seperti mencuci tangan secara teratur dan

penggunaan alat pelindung diri (APD). Pengembangan antibiotik baru memerlukan penelitian dan pengembangan yang berkelanjutan untuk menemukan antibiotik yang efektif.

Diagnosis yang cepat dan akurat merupakan kunci optimalisasi penggunaan antibiotik. Sebagai dasar penegakan diagnosis, uji diagnostik yang tepat memiliki pengaruh yang sangat kuat terhadap keputusan klinisi dalam meresepkan antibiotik. Penatagunaan antimikroba (PGA) dan penatalayanan diagnostic termasuk meliputi pemilihan uji dan interpretasi hasil, memiliki tujuan yang sinergis yaitu untuk meningkatkan penggunaan antibiotik yang rasional dan menurunkan laju resistansi antimikroba,

Teknologi mikrobiologi molekuler seperti PCR merupakan pendekatan mutakhir untuk diagnosis cepat penyakit infeksi. Perlu ditekankan bahwa pemeriksaan PCR tidak menggantikan pemeriksaan kultur dan uji kepekaan, melainkan melengkapinya.

PCR bekerja dengan mengamplifikasi materi genetik target sehingga patogen dalam konsentrasi rendah dapat terdeteksi. Karena mendeteksi materi genetik, PCR mampu mendeteksi organisme hidup dan yang sudah mati.

Seiring perkembangan teknologi, kini tersedia metode PCR *singleplex* atau *multiplex*/sindromik. Panel sindromik, jika diimplementasikan melalui alur kerja laboratorium yang optimal dan diinterpretasikan secara cermat, berpotensi untuk meningkatkan luaran *(outcome*) tata laksana pasien secara signifikan.

B. Tujuan

Memberikan acuan teknis terkait persiapan, pelaksanaan dan evaluasi pemanfaatan PCR untuk deteksi patogen penyebab infeksi.

C. Ruang Lingkup

Ruang lingkup pedoman ini mencakup pengaturan penggunaan PCR dalam mempercepat deteksi patogen penyebab infeksi guna mendukung pemberian terapi yang cepat, tepat dan sesuai dengan prinsip penatagunaan antimikroba. Penggunaan ini khususnya bagi rumah sakit yang telah memiliki antibiogram.

D. Sasaran

1. Rumah sakit

2. Laboratorium
3. Kementerian Kesehatan

E. Definisi Operasional

1. *Nucleic acid amplification tests* (NAATs) adalah teknik laboratorium untuk mendeteksi dan memperbanyak (amplifikasi) asam nukleat (DNA atau RNA) dari patogen (virus, bakteri atau parasit). Contoh: PCR, *reverse transcription polymerase chain reaction* (RT-PCA), *loop-mediated isothermal amplification* (LAMP), *transcription-mediated amplification* (TMA).
2. *Polymerase Chain Reaction* adalah salah satu jenis NAATs yang mengamplifikasi DNA secara spesifik dan selektif dengan sensitivitas tinggi dalam waktu singkat yang bermanfaat untuk mendeteksi patogen yang sulit atau tidak dapat dibiakkan (kultur).
3. Penatagunaan Antimikroba (PGA) adalah program strategis untuk *mengoptimalkan* penggunaan antimikroba guna meningkatkan efektivitas pengobatan, mengurangi resiko resistansi, serta menjamin keselamatan pasien.
4. Penatalayanan Diagnostik (*Diagnostic Stewardship*) adalah upaya *sistematis* untuk menjamin pemilihan test yang tepat, pada waktu yang tepat dengan spesimen yang tepat serta interpretasi hasil yang akurat untuk mendukung keputusan klinis dan efisiensi biaya.
5. Bakteri *pathogen* adalah bakteri terbanyak penyebab infeksi di rumah sakit, termasuk *Priority List of Pathogen WHO*.

BAB II
PEMERIKSAAN PCR UNTUK DETEKSI PATOGEN

A. Target Patogen Penyebab Infeksi di Rumah Sakit

Patogen penyebab infeksi sangat bervariasi di antara daerah atau rumah sakit. Jenis bakteri di kota-kota besar atau metropolitan, keragaman bakteri penyebab penyakit sangat banyak, mulai bakteri kokus atau batang Gram positif.

Fasilitas mesin diagnosis mikrobiologi yang sekarang berjalan, mampu mendiagnosis mikroba sebanyak lebih 1.500 spesies bakteri, dan lebih dari 400 spesies jamur/yeast/kapang, termasuk uji kepekaan untuk mampu melakukan terapi definitive yang menjadi standar emas penanganan penyakit infeksi. Sedangkan mesin Maldi TOF/Bruker yang memerlukan waktu sekitar 30 menit - 1 jam dan mampu mendeteksi sampai lebih 200 spesies. Pelayanan Maldi TOF/Bruker ini dilakukan untuk setiap diagnosis lebih murah, dengan harga sekitar 100-150 ribu rupiah.

Validasi alat diagnosis, umumnya dibandingkan dengan standar yang telah baku, yaitu mesin diagnosis yang sudah ada, maupun alat lain yang sudah divalidasi, seperti Maldi TOF/Bruker. Hasil2 validasi ini bisa dimasukkan sebagai dasar penerapan diagnosis untuk pelayanan, sehingga kita bisa mengetahui sensitifitas dan spesifisitas alat diagnosis tersebut.

Untuk diagnosis PCR, akan sangat membutuhkan referensi validasi PCR atau primer yang telah dirancang, dibandingkan dengan standar emas yang dipakai, yaitu mesin kultur mikrobiologi atau Maldi TOF/Bruker.

Diagnosis PCR adalah untuk diagnosis spesies, sedangkan untuk diagnosis uji kepekaan, sampai saat ini untuk bakteri non-spesifik belum ada alat yang terstandar di Indonesia. Sedangkan jenis antibiotika yang ada di pasaran, dan rutin menjadi target terapi, untuk setiap spesies bakteri, dibutuhkan uji sekitar 12-16 jenis antibiotika, yang masih perlu disesuaikan dengan jenis spesiesnya.

Bahan spesimen klinik ada dua jenis, yaitu spesimen yang dalam keadaan normal steril, seperti darah, cair otak dan cair tubuh lainnya. Untuk jenis kedua adalah yang secara normal mengandung bakteri, seperti urin dan sputum. Untuk metode kultur masih bisa dipisahkan, namun untuk PCR, masalah ini perlu ada jalan keluarnya.

B. Pelayanan molekuler PCR untuk deteksi mikroba penyebab infeksi.

Pemeriksaan molekuler untuk diagnosis bakteri telah banyak dikembangkan. Sasaran utamanya adalah mikroba yang sulit dibiakkan di laboratorium mikrobiologi. Namun untuk tujuan lain bisa memberi manfaat, sesuai dengan kebutuhan. Pemeriksaan PCR terutama ditujukan untuk deteksi mikroba dan diagnosis penyebab penyakit infeksi. Untuk tujuan terapi antibiotika, masih sangat terbatas untuk bakteri secara umum, walaupun untuk tuberculosis sudah banyak kemajuan. Karena itu diagnosis PCR untuk infeksi bakteri non-spesifik, masih bersifat pendukung sedangkan standar emas merupakan kultur mikrobiologi.

Untuk diagnosis PCR untuk mikroba, sudah banyak beredar dengan berbagai tingkatan sensitifitas dan spesifisitas. Pemilihan primer untuk diagnosis PCR perlu kajian khusus, berkaitan sensitifitas dan spesifisitas.

Diagnosis stewardship atau penatalayanan diagnosis penyakit infeksi sangat krusial dalam membantu klinisi menentukan terapi antimikroba yang tepat. Saat ini, modalitas pemeriksaan mikrobiologi telah tersedia mulai dari kultur bakteri/jamur, uji kepekaan (*susceptibility test*) pemeriksaan berbasis *immunoassay*, hingga pemeriksaan molekuler untuk mendeteksi genotipe mikroba dan pemeriksaan proteomik. Pemilihan metode tersebut bergantung pada tujuan (skrining atau diagnosis), indikasi klinis, jenis specimen, jenis mikroba yang dicurigai, waktu tunggu hasil (*Turn Around Time,* TAT) yang diharapkan serta kapasitas laboratorium.

Pemeriksaan mikrobiologi berbasis molekuler khususnya NAATs berkembang sangat pesat dalam mendeteksi materi genetik (DNA/RNA). Metode PCR yang umum digunakan meliputi antara lain:

1. PCR konvensional (*End-point PCR*): Deteksi produk amplifikasi dilakukan di akhir reaksi, biasanya menggunakan gel elektroforesis.
2. *Real time PCR* (qPCR): PCR memantau amplifikasi DNA secara *real-time* menggunakan sinyal fluoresen
3. *Reverse transcription* PCR (RT-PCR): Digunakan mendeteksi virus RNA, dengan mengubah RNA menjadi DNA (cDNA) terlebih dahulu
4. *Real time RT-PCR* (qRT-PCR): merupakan kombinasi RT-PCR dan real time-PCR (qPCR) untuk deteksi RNA secara cepat dan terukur
5. *Multiplex* PCR: PCR yang mendeteksi beberapa target/gen secara bersamaan dalam satu reaksi
6. *Nested* PCR: Menggunakan dua tahap amplifikasi dengan primer bertingkat untuk meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas.

NAATs tersedia dalam bentuk Sistem Terbuka (*Open Systems*) yang fleksibel terhadap berbagai reagen serta Sistem Tertutup (*Closed Systems*) yang lebih praktis namun terbatas pada reagen produsen. Inovasi teknologi terus diarahkan pada peningkatan akurasi, percepatan TAT (*Turn Around Time),* serta efisiensi biaya termasuk pengembangan *Next-Generation Sequencing* (NGS) dan *proteomics-based tests.*

Meskipun otomatisasi laboratorium telah maju, peran tenaga ahli dalam interpretasi hasil tetap tidak tergantikan. Hasil pemeriksaan sangat bergantung pada kualitas spesimen. Perlu dipahami bahwa mikroba prokariot memiliki kompleksitas genetik rendah dan mudah bermutasi sebagai bentuk adaptasi terhadap lingkungan, antimikroba, maupun sistem imun inang. Mutasi tersebut mungkin tidak selalu terdeteksi oleh perangkat uji tertentu. Selain itu, terapi yang telah diberikan dapat menyebabkan kematian mikroba, namun metode NAATs tetap dapat mendeteksi sisa materi genetiknya (DNA/RNA), sehingga hasil positif tidak selalu menunjukkan adanya infeksi aktif yang membutuhkan pengobatan berkelanjutan. Oleh karena itu, korelasi klinis tetap menjadi landasan utama dalam pengambilan keputusan medis.

Pemeriksaan mikrobiologi berbasis molekuler baik untuk tujuan skrining maupun penegakan diagnosis etiologi penyakit infeksi, merupakan salah satu strategi pengendalian AMR di fasilitas pelayanan Kesehatan. Identifikasi akurat terhadap penyebab infeksi memungkinkan klinisi menentukan urgensi pemberian antimikroba serta memilih jenis terapi yang paling tepat. Terapi definitive penyakit infeksi masih memerlukan pemeriksaan mikrobiologi standar, berkaitan berbagai pilihan antibiotik, apa yang sensitive dan mana yang resisten. Oleh karena itu pemeriksaan molekuler masih sangat diperlukan pemeriksaan mikrobiologi standar.

Panduan pemeriksaan mikrobiologi berbasis molekuler ini disusun sebagai acuan bagi fasilitas pelayanan kesehatan dalam pemanfaatan PCR sebagai pemeriksaan rutin. Dalam praktek klinis, metode PCR yang paling umum digunakan adalah *quantitative PCR* (qPCR) dan *quantitative Reverse Transcription PCR* (qRT-PCR). Oleh karena itu, cakupan panduan ini dibatasi untuk penerapan pemeriksaan qPCR.

C. Pertimbangan Klinis dan Teknis Pemeriksaan PCR

Deteksi materi genetik mikroba melalui PCR memerlukan pertimbangan mendalam terkait interpretasi hasilnya, antara lain:

1. Viabilitas Mikroba: Asam nukleat (materi genetik) tetap dapat terdeteksi dalam jangka waktu tertentu meskipun mikroba telah mati. Durasi keberadaan sisa materi genetik ini dipengaruhi oleh berbagai faktor biologis. Oleh sebab itu, metode PCR tidak direkomendasikan untuk memantau respons terapi atau memastikan kesembuhan (*test of cure*) pada pasien yang telah mendapatkan terapi antimikroba yang adekuat.
2. Integritas Materi Genetik dan Kontaminasi: PCR dapat mendeteksi fragmen materi genetik yang tidak utuh. Untuk menjaga akurasi dan menghindari hasil positif palsu akibat kontaminasi lingkungan, setiap proses pengujian wajib menyertakan Kontrol Negatif *(No Template Control)* yang hanya berisi reagen atau mastermix.
3. Interpretasi Flora Normal: Permukaan kulit dan mukosa manusia dihuni oleh flora normal yang beragam. Penggunaan spesimen dari lokasi yang bersentuhan dengan area tersebut harus diprioritaskan untuk mendeteksi patogen sejati *(truly pathogen)* guna menghindari kerancuan antara kolonisasi dan infeksi aktif.

D. Sumber daya

Untuk menjamin mutu pemeriksaan PCR, fasilitas pelayanan kesehatan harus memenuhi standar sumber daya sebagai berikut:

1. Sumber daya manusia (SDM)
   a. Tenaga Teknisi/Analis Laboratorium yang memiliki kompetensi teknis yang dibuktikan dengan sertifikat pelatihan resmi pemeriksaan mikrobiologi berbasis molekuler metode PCR.
   b. Dokter Penanggung Jawab Laboratorium yang memiliki kompetensi di bidang Mikrobiologi Klinik atau Dokter yang memiliki kompetensi di bidang Patologi Klinik yang bertanggung jawab atas validasi metode, interpretasi hasil klinis, dan pengawasan mutu laboratorium

2. Ruangan laboratorium

   Untuk menunjang fungsi laboratorium dengan optimal, bisa dilakukan pembagian ruangan sebagaimana pada tabel 1 berikut.

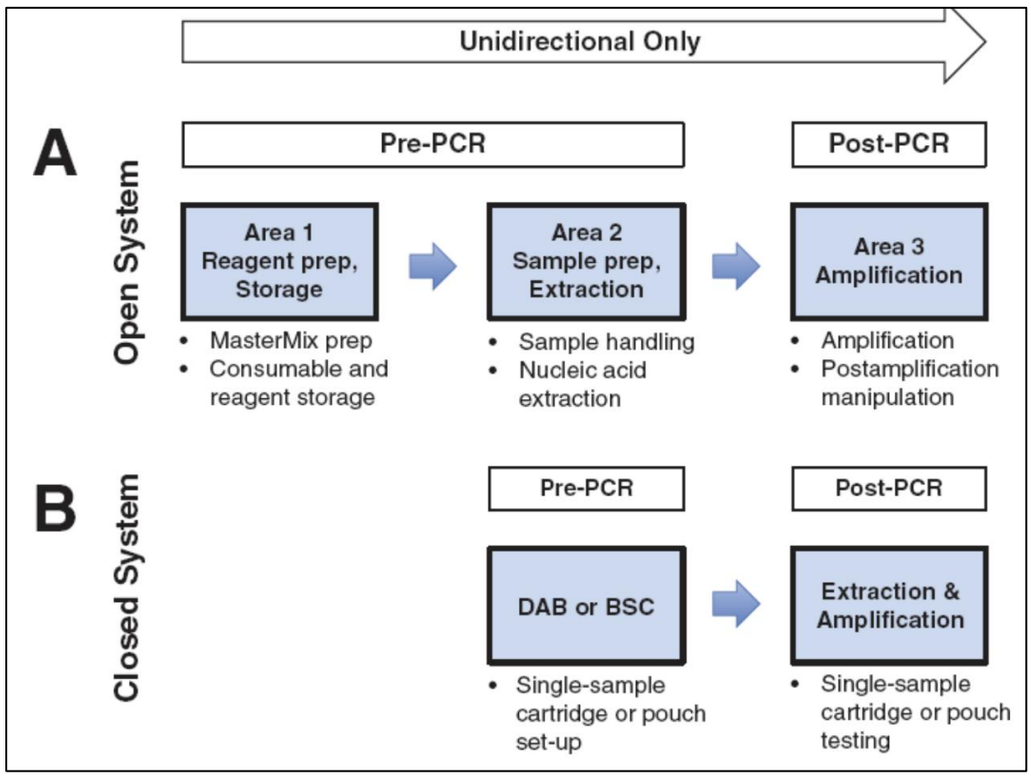
Tabel 1

Pembagian ruangan laboratorium dan peralatan yang tersedia

No.	Nama ruangan	Syarat/Peralatan yang harus tersedia	Keterangan
1.	Ruang laboratorium secara umum	Ruang laboratorium BSL2 terpisah dengan area publik	
		Pemisahan ruang infeksius, non infeksius (label *biohazard* di pintu)	
		Memiliki pintu yang bisa dikunci atau akses terbatas	
		Memiliki jendela yang tertutup rapat	
		Aliran udara searah filter udara exhaust/ HVAC sistem	
		Penerangan cukup, lampu tidak menggantung	
		Lantai kuat, tahan air, tidak ada nat dan sudut	
		Dinding tidak kasar, tahan air, mudah dibersihkan	
		Terdapat wastafel dengan pencuci mata	
		Shower	
		Listrik memadai dan terdapat genset	
		Pengolahan air yang baik	
		Hidran/pemadam kebakaran	
		Sistem alarm keamanan	
		Jalur evakuasi	
2.	Ruang ekstraksi asam nukleat	Terdapat BSC klas 2, sentrifus, vortex, 1 set mikropipet	
3.	Ruang pembuatan *master-mix*	Terdapat *laminar flow*, vortex, 1 set mikropipet	

No.	Nama ruangan	Syarat/Peralatan yang harus tersedia	Keterangan
4.	Ruang penambahan asam nukleat DNA atau RNA	Minimal terdapat PCR *cabinet* atau *laminar flow* atau BSC klas 2, vortex, 1 set mikropipet	
5.	Ruang PCR	Terdapat mesin PCR	
6.	Ruang analisis hasil		
7.	Ruang sterilisasi	Terdapat otoklav; *exhaust*	
8.	Ruang penyimpanan reagen	Terdapat refrigerator, *freezer* -20^{0}C, *freezer* -80^{0}C.	

Laboratorium yang memiliki lahan yang cukup luas, sangat dianjurkan dari ruangan nomor 2 hingga nomor 8 dimana ruangan tersebut merupakan ruangan yang terpisah, namun bila lahan terbatas, maka dapat mengikuti penggunaan ruangan sesuai pada gambar 1. Dalam pelaksanaannya harus diterapkan alur bekerja dari pekerjaan yang bersih ke kotor.



Gambar 1. Skema alur bekerja di laboratorium PCR satu arah yang memisahkan area bersih ("pra-PCR") dan area kotor ("pasca PCR") untuk mengerjakan metode PCR dengan sistem terbuka (A) dan tertutup (B). DAB: *dead-air box*; BSC: *biological safety cabinet*

Di laboratorium yang mengerjakan PCR sistem terbuka dan lahan sangat terbatas, maka area 1 dan area 2 dapat dilakukan dalam satu ruangan, namun harus disediakan DAB atau BSC khusus untuk membuat *mastermix.* Penyatuan area 1 dan 2 ini hanya diterapkan dalam situasi bila pemisahan ruangan tidak dimungkinkan. Idealnya area 3 (ruang PCR) bertekanan negatif untuk meminimalkan kontaminasi amplikon ke dalam ruangan bersih (pra-PCR).

Perpindahan analis/petugas laboratorium dan spesimen harus sangat dibatasi dan mengikuti arah bekerja dari area bersih ke kotor (*unidirectional workflow*). Penjadwalan kerja juga sangat penting untuk mencegah kontaminasi, yaitu dalam 1 hari atau 1 *shift* analis laboratorium atau petugas kebersihan harus bekerja sesuai alur area 1 ke area 2, terakhir di area 3, dan tidak boleh kembali ke area 1 atau 2 pada hari atau *shift* yang sama kecuali bila sudah mandi dan berganti baju.

Pengerjaan PCR sistem tertutup, meskipun ekstraksi dan pencampuran hasil ekstraksi dan *mastermix* dalam *cartridge,* tetap disarankan untuk dikerjakan di ruangan terpisah dengan ruang

amplifikasi atau dalam satu ruang tapi pra-PCR dikerjakan dalam DAB atau BSC khusus. Desain dan teknologi PCR sistem tertutup yang cukup kompleks, maka akan sulit sekali mengatasi kontaminasi produk amplikon. Oleh karenanya, hal tersebut harus diantisipasi sejak awal dengan desain laboratorium dan alur kerja yang harus dipatuhi.

3. Reagen

Reagen yang digunakan dalam reaksi PCR tergantung pada metode yang digunakan, merupakan sistem terbuka atau tertutup. Dalam sistem tertutup juga perlu diperhatikan reagen disediakan mulai ekstraksi asam nukleat sampai dengan terbentuk amplikon (produk amplifikasi) atau tanpa reagen ekstraksi. Bila digunakan sistem terbuka, maka reagen yang digunakan adalah:

a. Kit reagen ekstraksi asam nukleat
b. Kit reagen mastermix yang terdiri dari
    1) DNA *Polymerase*
    2) *Deoxynucleoside Triphosphates* (dNTPs)
    3) Buffer, cation [MgCl2], and salt
    4) Nuclease-Free Water
    5) Fluorescent Probes or Dyes
    6) dsDNA Binding Dyes
c. Primers sesuai mikroba atau gen resisten yang dideteksi (bisa menyatu dengan *mastermix* atau terpisah)

E. Pemeriksaan PCR

1. Fase pra-analisis

Fase pra-analisis adalah tahap awal yang sangat penting dalam pemeriksaan laboratorium, termasuk pemeriksaan PCR untuk mendeteksi patogen penyebab penyakit infeksi. Fase tersebut terjadi sejak dokter penanggung jawab pasien memutuskan adanya indikasi pemeriksaan mikrobiologi, jenis spesimen, waktu dan cara pengambilan, metode pengiriman ke laboratorium sehingga spesimen layak untuk diperiksa, serta pemilihan metode pemeriksaan yang paling tepat untuk mendeteksi mikroba patogen. Formulir permintaan pemeriksaan harus menjelaskan diagnosis kerja, komorbid, riwayat penyakit infeksi dahulu, serta pengobatan antibiotik yang telah diberikan. Kerja sama dan komunikasi yang baik antara dokter pengirim, pengambil spesimen,

kurir, serta laboratorium pemeriksa sangat penting untuk mendapatkan hasil terbaik.

Patogen yang dideteksi sesuai diagnosis penyakit dan jenis spesimen disertai cara pengirimannya dapat dilihat di tabel 2.

Tabel 2.
Patogen, Jenis spesimen, dan transport spesimen untuk pemeriksaan menggunakan NAATs, khususnya dengan metode PCR.

No.	Diagnosis kerja	Patogen penyebab yang dideteksi	Spesimen	Transportasi
1.	Infeksi aliran darah	HACEK bacteria (*Haemophilus parainfluenzae, Aggregatibacter* (*Haemophilus) aphrophilus, Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans, Cardiobacterium hominis, Eikenella corrodens,* dan *Kingella kingae Brucella spp.* Anaerobic bacteria *Bartonella spp.*	Plasma 5mL	Tabung EDTA, suhu ruang, 2 jam
		Tropheryma whipplei	Serum atau plasma 5mL	Tabung EDTA, suhu ruang, 2 jam
2.	Perikarditis Miokarditis	*Echovirus*	Cairan perikardium atau biopsi pericardium	Dalam wadah steril tertutup

No.	Diagnosis kerja	Patogen penyebab yang dideteksi	Spesimen	Transportasi
				rapat, suhu ruang, 2 jam
3.	Meningitis Ensefalitis	*Mycobacterium tuberculosis*	Cairan serebro spinal (*cerebro spinal fluid*, CSF)	Dalam wadah steril tertutup rapat, suhu ruang, 2 jam
		Borrelia burgdorferi (*Lyme disease*)	CSF	Dalam wadah steril tertutup rapat, suhu ruang, 2 jam
		Leptospira spp.	Darah	Tabung EDTA atau sitrat sodium, suhu ruang, 2 jam
			CSF Urin	Dalam wadah steril tertutup rapat, suhu

No.	Diagnosis kerja	Patogen penyebab yang dideteksi	Spesimen	Transportasi
				ruang, 2 jam
		Enteroviruses (nonpolio) Parechoviruses HSV 1 dan 2 Mumps virus	CSF Urin	Dalam wadah steril tertutup rapat, suhu ruang, 2 jam
		VZV	Meningitis: CSF Ensefalitis: CSF atau plasma	
		HIV Ctt. Untuk diagnosis meningitis HIV yang seringkali terjadi pada awal sindrom HIV dengan hasil analisis CSF: limfositosis, peningkatan protein dan glukosa normal Pada pasien yang telah terdiagnosis infeksi HIV sebelumnya	CSF Urin	Dalam wadah steril tertutup rapat, suhu ruang, 2 jam

No.	Diagnosis kerja	Patogen penyebab yang dideteksi	Spesimen	Transportasi
4.	Ensefalitis	*West nile virus* (WNV)	CSF dan/atau serum	Dalam wadah/tabung (*clot*) steril tertutup rapat, suhu ruang, 2 jam
		EBV CMV	CSF atau plasma	Dalam wadah steril tertutup rapat atau tabung EDTA, suhu ruang, 2 jam
		HHV-6 (*Human Herpes Virus* 6) JC virus	CSF	Dalam wadah steril tertutup rapat, suhu ruang, 2 jam
		Measles (Rubeola) virus	CSF, urin	Dalam wadah steril tertutup rapat, suhu

No.	Diagnosis kerja	Patogen penyebab yang dideteksi	Spesimen	Transport asi
				ruang, 2 jam
			Swab nasofaring atau faring	Medium transport virus (*viral transport medium*, VTM), dalam container dingin, segera
		Influenza virus *Adenovirus*	*Nasopharyngeal wash* atau spesimen saluran napas lainnya	VTM, dalam kontainer dingin, segera
		Rabies virus	Saliva	VTM, dalam kontainer dingin, segera
		Bartonella spp.	CSF atau plasma	Wadah steril atau tabung EDTA, suhu ruang, 2 jam
		Mycoplasma pneumoniae	CSF atau sekret	Wadah steril,

No.	Diagnosis kerja	Patogen penyebab yang dideteksi	Spesimen	Transportasi
			saluran napas	suhu ruang, 2 jam
		Tropheryma whipplei (Whipple's Disease)	CSF	Wadah steril, suhu ruang, 2 jam
		Coxiella burnetii (Q fever)	Darah (*whole blood*)	Tabung EDTA, suhu ruang, 2 jam
			Jaringan	Wadah steril, suhu ruang, 2 jam
		Rickettsia rickettsii RMSF, R. typhi	Darah (*whole blood*)	Tabung EDTA, suhu ruang, 2 jam
		Ehrlichia chaffeensis, Anaplasma phagocytophilum	Darah (*whole blood*)	Tabung EDTA, suhu ruang, 2 jam
		Acanthamoeba spp. Naegleria fowleri Balamuthia mandrillaris	CSF Jaringan otak	Wadah steril, suhu ruang, 2 jam

No.	Diagnosis kerja	Patogen penyebab yang dideteksi	Spesimen	Transportasi
5.	*Focal Parenchymal Brain Infections* dan *Subdural Empyema, Epidural Abscess, and Suppurative Intracranial Thrombophlebitis*	Bakteri atau *Nocardia sp.*: pemeriksaan 16S ribosomal RNA gene PCR/sequencing	Aspirat dari abses Jaringan	Wadah steril, suhu ruang, segera
		Mycobacterium tuberculosis *Toxoplasma gondii*	Aspirat dari abses Jaringan	Wadah steril, suhu ruang, 2 jam
6.	*Focal Parenchymal Brain Infections*	*Acanthamoeba spp.* *Naegleria fowleri*	CSF Jaringan	Wadah steril, suhu ruang, 2 jam
7.	*Focal Parenchymal Brain Infections*	*Balamuthia mandrillaris*	Jaringan	Wadah steril, suhu ruang, 2 jam
8.	Mastoiditis	*Mycobacterium tuberculosis*	Jaringan mastoid	Wadah steril, suhu ruang, 2 jam
9.	Pre-septal dan orbital sellulitis, Infeksi lakrimal dan kelopak mata Konjunctivitis Keratitis	*Chlamydia trachomatis*	Swab sekret purulen	VTM, suhu ruang, 2 jam

No.	Diagnosis kerja	Patogen penyebab yang dideteksi	Spesimen	Transport asi
	Endophthalmitis, Panophthalmitis, Uveitis Retinitis	HSV VZV Virus Herpes B Adenovirus Enterovirus, Coxsackie virus, Arboviruses, Ebola	Swab dari jaringan lesi	VTM, suhu ruang, 2 jam
		Toxoplasma gondii	Aspirat cairan mata	Wadah steril, suhu ruang, 2 jam
10.	*Trauma-Associated Cutaneous Infections* Infeksi daerah operasi	*Streptococcus* Group A, B, C, dan G	Aspirat, Jaringan	Wadah steril, tambahkan sedikit salin steril, suhu ruang, <2 jam
11.	Faringitis	*Streptococcus pyogenes* *Neisseria gonorrhoeae*	Swab faring	Hubungi laboratorium pemeriksa
12.	Bronchiolitis	Respiratory syncytial virus Rhinovirus Human bocavirus type I Human Metapneumovirus Parainfluenza virus Adenovirus	Swab nasofaring Aspirat atau cairan cucian nasal (nasal washes) Swab faring	VTM, *universal transport medium* (UTM), atau wadah steril transport

No.	Diagnosis kerja	Patogen penyebab yang dideteksi	Spesimen	Transportasi
		Human coronaviruses (HcoV NL63; HKCoV-2) Adenovirus Influenza virus Enterovirus		suhu ruang, < 2 jam atau suhu kulkas (2–8°C)
13.	Bronkhitis akut akibat infeksi bakteri	*Mycoplasma pneumoniae*	Swab nasofaring Aspirat nasofaring Swab faring	Hubungi laboratorium pemeriksa
		Chlamydia pneumoniae	Swab nasofaring	Hubungi laboratorium pemeriksa
14.	Pertusis	*Bordetella pertussis*	Swab nasofaring menggunakan *flocked swabs* atau swab tipped polyester (Dacron®), rayon, nylon	VTM atau wadah steril, suhu ruang <2jam atau dingin (2–8°C), 24–48jam
15.	Bronkhitis akut akibat infeksi virus Bronkhitis kronik dan eksaserbasi akut akibat infeksi virus	*Influenza virus Parainfluenza viruses Respiratory syncytial virus* (RSV) *Human metapneumovirus*	Aspirat atau cuci nasal, swab atau aspirat nasofaring (*nasopharyngeal,* NP), swab faring	VTM atau wadah steril, suhu ruang <2jam atau dingin (2–

No.	Diagnosis kerja	Patogen penyebab yang dideteksi	Spesimen	Transportasi
		Coronavirus *Adenovirus* *Rhinovirus*		8°C), 24–48jam
16.	Pneumonia diperoleh dari komunitas (c*ommunity-acquired pneumonia*)	*Legionella sp.*	Sputum induksi, aspirat endonasotracheal aspirates, bronchoscopic specimens	Wadah steril, suhu ruang <2jam, suhu 4°C, 2-24jam
		Mycoplasma pneumoniae	Swab faring, swab NP, sputum, broncho alveolar lavage (BAL)	Transpor dalam M4 atau medium spesifik Mycoplasma lainnya pada suhu ruang atau 4°C sampai dengan 48jam; ≥48jam, −70°C
		Chlamydia pneumoniae	Swab NP, swab faring atau, sputum, secret dari bronkhus	Transpor dalam M4 atau medium spesifik Mycoplas

No.	Diagnosis kerja	Patogen penyebab yang dideteksi	Spesimen	Transportasi
				ma lainnya pada suhu ruang atau 4°C sampai dengan 48jam; ≥48jam, −70°C
		Mycobacterium tuberculosis and NTM	sputum minimum 5 mL; spesimen dari bronkhoskopi aspirat, gaster pada anak kecil	Wadah steril, suhu ruang, ≤2jam; 4°C ≤24jam
17.	Pneumonia diperoleh dari komunitas (*community-acquired pneumonia*) Cystic Fibrosis	*Influenza viruses* A, B *Adenovirus* *Parainfluenza viruses* 1–4 *Respiratory syncytial virus* *Human metapneumovirus* *Coronaviruses including* SARS CoV-2 *Rhinovirus* *Enteroviruses*	Aspirat atau cucian nasal; swab NP; swab faring; spesimen dari bronkhoskopi	Transport dalam VTM, suhu ruang <2jam; 4°C 5 hari; >5 hari −70°C

No.	Diagnosis kerja	Patogen penyebab yang dideteksi	Spesimen	Transportasi
18.	*Hospital-Acquired Pneumonia* (HAP) *Ventilator-Associated* Pneumonia (VAP) pada *Immunocompetent Host*	*Legionella spp.*	Sputum; aspirat endotrakheal, BAL; *Protected specimen brush;* jaringan paru	Wadah atau tabung steril, suhu ruang , 2jam; 4°C, 2–24jam
		Influenza viruses A, B *Parainfluenza viruses* 1–4 *Adenovirus* RSV	Cucian nasal, aspirat atau swab NP, aspirat endotrakheal, BAL; *Protected specimen brush;* jaringan paru	VTM, suhu ruang atau 4°C, 5 hari; −70° C, >5 hari
19.	Pleuritis	*Mycobacterium tuberculosis*	Cairan pleura	Wadah atau tabung steril, suhu ruang , 2jam; 4°C, 2–24jam
20.	Pneumonia pada	Dapat diperiksa berbagai virus yang	Sesuai diatas	Sesuai diatas

No.	Diagnosis kerja	Patogen penyebab yang dideteksi	Spesimen	Transportasi
	imunokompromis	disebutkan diatas (sebagai patogen sal.napas)		
		CMV (kuantitatif)	Darah (*whole blood*), plasma, BAL	Tabung EDTA: suhu ruang, 6–8 jam; 4°C 8–24 jam VTM: 4°C, 5 hari; −70°C >5 hari
		HSV	Spesimen dari bronkhoskopi; *Protected specimen brush;* jaringan paru	VTM, 4°C, 5 hari; −70°C >5 hari
21.	Esofagitis	HSV	Esophageal brushing atau biopsi	Wadah steril, VTM suhu ruang, 2 jam
22.	Gastritis	*Helicobacter pylori* dan deteksi gen resistansinya	Feses	Wadah steril tertutup, medium transport, suhu ruang, 7 hari

No.	Diagnosis kerja	Patogen penyebab yang dideteksi	Spesimen	Transportasi
23.	Gastroenteritis, *Infectious and Toxin-Induced Diarrhea*	*Clostridioides difficile* dan toksin A,B	Feses diare (*unformed Stool*)	Wadah steril tertutup, suhu ruang 7 hari
		Salmonella spp. *Shigella spp.* *Campylobacter spp.* *Enterohemorrhagic E. coli* (termasuk *E. coli* O157:H7 dan *Shiga-toxin-producing E. coli* lainnya)	Feses diare (*unformed Stool*)	Wadah steril tertutup, suhu ruang 2 jam Cary-Blair atau medium transport lainnya, suhu ruang, 24 jam
		Yersinia enterocolitica *Vibrio spp.* *Plesiomonas shigelloides* *E. coli Enterotoxigenic Enteroinvasived, Enteropathogenic, Enteroaggregatived*	Feses diare (*unformed Stool*)	Wadah tertutup, suhu ruang, 2 jam
		Entamoeba histolytica *Cryptosporidium spp.*	Feses	Medium transport Cary-Blair,

No.	Diagnosis kerja	Patogen penyebab yang dideteksi	Spesimen	Transportasi
				suhu ruang 24 jam
		Astrovirus *Calicivirus (Norovirus, Sapovirus)* *Enteric adenovirus* *Rotavirus* *Enterovirus/Parechovirus* *Rotavirus*	Feses	Wadah steril tertutup, suhu ruang, 2 jam
24.	Proctitis	*Neisseria gonorrhoeae* *Chlamydia trachomatis*	Swab rektum	Hubungi laboratorium pemeriksa
		Monkeypox virus	Swab rektum	Viral transport medium, RT, 2 h, wet ice if >2 h
25.	*Intra-abdominal Infections: Spontaneous bacterial peritonitis/ascites; Secondary peritonitis; Tertiary peritonitis; Peritoneal dialysis–*	*Mycobacterium*	Cairan peritoneum, aspirat atau jaringan	Wadah steril tertutup; suhu ruang <1jam atau 4°C

No.	Diagnosis kerja	Patogen penyebab yang dideteksi	Spesimen	Transportasi
	associated peritonitis			
26.	*Space-occupying lesions of the liver*	*N. gonorrhoeae* *C. trachomatis*	Urethra, pelvic specimen (approved swabs), or urine (sterile cup)	RT for <1 h or 4°C
27.	*Infections of the biliary tree*	CMV	Aspirat Biopsi	VTM: <1jam, suhu ruang, jika >1jam, −70°C
28.	*Splenic abscess*	*Mycobacterium*	Cairan Jaringan	Wadah steril, jika >1jam, 4°C
29.	*Cystitis* *Pyelonephritis*	*Adenovirus*	Urin porsi tengah	Wadah steril
		BK Polyoma virus	PCR kuantitatif dari urin, plasma, atau serum	Darah: tabung EDTA atau sitrat, suhu ruang Serum: tabung steril, suhu ruang

No.	Diagnosis kerja	Patogen penyebab yang dideteksi	Spesimen	Transportasi
				Urin: wadah steril
30.	Epididymitis Orchitis	*Chlamydia trachomatis* *Neisseria gonorrhoeae* *Mycoplasma genitalium* *Trichomonas vaginalis*	Swab uretra atau urin pancaran pertama	Wadah steril
		Mumps Coxsackie Rubella EBV VZV	Hubungi laboratorium pemeriksa	Hubungi laboratorium pemeriksa
31.	Lesi pada genital	HSV 1 and 2	Swab lesi (kulit atau mukosa)	UTM, VTM Hubungi laboratorium pemeriksa
		Orthomyxoviridae (mpox dan variola) *Monkeypox virus*	Swab lesi Swab bisa disatukan bila sumber spesimen sama; swab dimasukkan dalam tabung berbeda bila sumber berbeda	UTM/VTM, suhu ruang, 24 jam, suhu dingin 7 hari

No.	Diagnosis kerja	Patogen penyebab yang dideteksi	Spesimen	Transportasi
			(contoh dari kulit dan rectum)	
		LGV j (*Chlamydia* serovars L1, L2, L2a, L2b, L3)	Proktitis: swab rectum atau swab lesi lain bila ada	UTM/VTM, suhu ruang atau dingin 2 hari
32.	Trichomoniasis : Vaginitis Servisitis	*Trichomonas vaginalis*	Swab vagina, endoserviks, urin atau spesimen sitologi cair, swab uretra, swab rektum, swab faring	Medium transport, suhu ruang 24 jam atau suhu dingin 7 hari
33.	Servisitis	*Neisseria gonorrhoeae* *Chlamydia trachomatis*	Urin, swab vagina, endoserviks dan/atau uretra, swab rectum, faring, konjungtiva, spesimen sitologi cair	Medium transport, suhu ruang 48 jam atau suhu dingin 7 hari
		HSV	Swab lesi kulit atau mukosa	Hubungi laboratorium pemeriksa
		Mycoplasma genitalium	Urin atau swab uretra	Hubungi laboratori

No.	Diagnosis kerja	Patogen penyebab yang dideteksi	Spesimen	Transportasi
				um pemeriksa
34.	*Pelvic inflammatory diseases* dan endometritis	*Neisseria gonorrhoeae* *Chlamydia trachomatis* *Trichomonas vaginalis* *Mycoplasma genitalium*	Urin, swab endoserviks	Hubungi laboratorium pemeriksa
35.	Osteomielitis	16S ribosomal RNA gene PCR/sequencing Patogen penyebab yang dilaporkan: *Staphylococcus aureus* *Coagulase-negative staphylococci* *Salmonella species* *Streptococcus species* *Enterococcus species* *Enterobacterales* *Candida species* *Brucella species* *Pseudomonas sp.* *Anaerobic bacteria* *Kingella kingae* *Mycobacterium tuberculosis* *Actimyces sp.* (pada kasus osteomyelitis	Biopsi tulang	

No.	Diagnosis kerja	Patogen penyebab yang dideteksi	Spesimen	Transportasi
		maksila/mandibula) *Nocardia sp.* (pada kasus *mycetoma* atau infeksi kronis jaringan lunak yang menyebar ke tulang)		
36.	Artritis akut	16S ribosomal RNA gene PCR/sequencing atau PCR multiplex Patogen penyebab yang dilaporkan: *Staphylococcus aureus* *Staphylococcus lugdunensis* *Streptococcus sp.* *Enterobacterales* *Pseudomonas sp.* *Kingella kingae* *Neisseria gonorrhoeae* *Brucella sp.*	Cairan sendi (*synovial fluid*) Biopsi jaringan sendi (*synovium biopsy*)	Wadah steril, tertutup, suhu ruang, 2 jam
		Parvovirus B19	Cairan sendi (*synovial fluid*)	Wadah steril, tertutup, suhu ruang, 2 jam
37.	Artritis subakut atau kronik	*Borrelia burgdorferi* *Mycobacterium tuberculosis*	Cairan sendi (*synovial fluid*)	Wadah steril, tertutup,

No.	Diagnosis kerja	Patogen penyebab yang dideteksi	Spesimen	Transportasi
		Non-tuberculous mycobacteria		suhu ruang, 2 jam
		Staphylococcus aureus	Cairan bursa	Wadah steril, tertutup, suhu ruang, 2 jam
38.	Infeksi sendi *periprosthetic*	16S ribosomal RNA gene PCR/sequencing atau PCR multiplex Patogen penyebab yang dilaporkan: *Staphylococcus aureus* *Staphylococci* koagulase-negatif *Enterococcus sp.* *Streptococcus sp.* *Enterobacterales* *Pseudomonas aeruginosa* *Corynebacterium sp.* *Cutibacterium acnes* *Finegoldia magna* Bakteri aerob atau anaaerob lainnya *Mycobacterium sp.* Jamur	Cairan sendi (*synovial fluid*) Biopsi jaringan sendi (*synovium biopsy*) Prostesis, bila diambil dilakukan vortex atau sonikasi	Wadah steril, tertutup, suhu ruang, 2 jam

Pada fase pra-analisis dapat terjadi kesalahan karena beberapa hal, seperti yang tercantum dalam tabel 3.

Tabel 3.
Kesalahan yang mungkin timbul pada fase pra-analisis dan dampaknya

Sumber kesalahan	Contoh	Dampak klinis
Lokasi pengambilan spesimen	Ditemukan *S.aureus* pada swab kulit dan bukan dari swab luka terinfeksi	Ditemukannya *S.aureus* pada swab kulit tidak memiliki makna klinis karena *S.aureus* adalah flora normal kulit
Metode pengambilan spesimen	Seharusnya swab nasofaring tapi yang terambil hanya sekret dari dalam rongga hidung (*nasal passage*)	Menyebabkan infeksi tidak dpt terdeteksi karena sekret banyak mengandung flora normal
Pengambilan spesimen yang tidak sesuai indikasi	Deteksi *Clostridioides difficile* pada pasien tanpa gejala	Hasil tidak bermakna secara klinis karena *C.difficile* bisa ditemukan sebagai flora normal atau pada *carrier*
Medium transport	Medium tidak sesuai	Spesimen rusak
Suhu penyimpanan	Suhu tidak sesuai ketentuan	Spesimen rusak atau flora normal atau kontaminan tumbuh berlebihan
Waktu pengambilan spesimen	Tidak tercatat	Sulit dalam interpretasi
Pelabelan	Tidak lengkap	Salah pasien

2. Fase analisis

Metode pemeriksaan berbasis molekuler yang dilakukan secara manual ataupun otomatisasi harus dilakukan secara hati-hati untuk menjamin kualitas hasil dan mencegah kontaminasi. Metode otomatisasi dengan sistem tertutup mengurangi risiko kontaminasi. Selain desain ruangan yang terpisah, alur bekerja bersih ke kotor yang dipatuhi, dan prosedur pengerjaan berikut ini sangat penting diperhatikan:

a. Dekontaminasi

Sebelum memulai pekerjaan di area manapun, meja kerja, BSC, dan pipet harus dibersihkan dengan *bleach* 10% atau 0,5-1% sodium *hypochlorite* dan diikuti etanol 70% untuk menghilangkan efek korosif dari *bleach.* Cairan pembersih ini harus disiapkan baru setiap hari. Pembersihan tersebut juga harus dilakukan setelah bekerja. Bila terjadi tumpahan spesimen atau asam nukleat, dibersihkan menggunakan desinfektan yang sama, baik pada permukaan meja kerja ataupun peralatan misalnya mikropipet. Bila tersedia, juga bisa digunakan DNA/RNA-*destroying solution* (contoh DNA *Away* atau DNA *Erase*). Dekontaminasi alat menggunakan instruksi yang tertulis pada manual produk, mengingat kemungkinan desinfektan mengakibatkan korosif pada alat. Pembersihan rak tabung dengan cara merendamnya ke dalam *bleach* 10% selama 15-30 menit atau semalam bila memungkinkan, diikuti dengan pembilasan dengan air bersih. Semua rak atau alat yang keluar dari area amplifikasi harus didekontaminasi dengan cara yang sama.

Disarankan pemasangan keset lantai yang lengket terutama di pintu masuk area 1 dan pintu keluar dari area 3, untuk mengurangi penyebaran debu, kotoran, dan amplikon ke lokasi lain. Keset tersebut harus dibersihkan setiap hari.

b. Penggunaan alat pelindung diri (APD)

Selama bekerja analis menggunakan jas lab dan sarung tangan. Jas laboratorium harus dilepas setiap kali keluar dari area tertentu, sedangkan sarung tangan yang sama boleh digunakan bila pindah dari area bersih ke kotor, tapi tidak sebaliknya. Sarung tangan ataupun jas laboratorium yang digunakan di ruang amplifikasi tidak boleh keluar ke ruang lainnya. Bila terjadi

tumpahan spesimen, produk ekstraksi ataupun amplikon, APD harus segera diganti.

c. Pelaksanaan pemeriksaan sesuai alur bersih ke kotor

1) Persiapan reagen

Persiapan reagen dilakukan di area 1, terbaik dikerjakan di dalam DAB atau BSC yang dilengkapi sinar ultraviolet untuk dekontaminasi saat DAB atau BSC tidak digunakan. Diusahakan reagen disimpan dalam alikuot untuk 1 kali penggunaan sebagai upaya mencegah kontaminasi asam nukleat dan kerusakan reagen akibat beku-cair (*freeze-thaw*) berulang. Area 1 ini digunakan pekerjaan dan penyimpanan reagen steril saja.

2) Persiapan spesimen: ekstraksi DNA atau RNA

Ekstraksi asam nukleat adalah prosedur yang memiliki risiko tinggi sebagai sumber kontaminasi. Bila proses ekstraksi dilakukan secara manual, harus digunakan pipet tip berfilter dan panjangnya disesuaikan dengan kedalaman tabung, sehingga ujung mikropipet tidak tersentuh spesimen/terkontaminasi. Dalam satu waktu hanya membuka tabung 1 spesimen, bergantian dengan membuka tabung spesimen lain, hal ini untuk mencegah kontaminasi silang. Demikian pula bila spesimen atau reagen harus dipipet ke dalam plat 96 sumur (96-well plate), maka tabung spesimen atau reagen dibuka satu per satu (tidak terbuka dalam waktu yang bersamaan).

3) Inokulasi DNA atau RNA ke dalam *mastermix*

Inokulasi DNA atau RNA ke dalam mastermix dapat dilakukan secara manual atau dengan bantuan mesin otomatisasi di area 2 atau ruang terpisah di dalam BSC. Sinar ultraviolet dinyalakan selama tidak ada prosedur yang dilakukan sebagai upaya dekontaminasi tambahan. Tip pipet yang digunakan juga harus berfilter dan hanya menggunakan 1 tip tiap kali pemipetan spesimen. Pemindahan hasil ekstraksi DNA/RNA ke dalam tabung mastermix harus selalu memerhatikan label identitas yang sama atau tidak tertukar. Selain tabung reagen mastermix yang diinokulasi DNA/RNA, pada setiap batch harus ada kontrol negatif yang hanya berisi reagen, kontrol positif untuk semua gen target (pada PCR multiplex), dan kontrol internal. Bila hasil ketiga bahan kontrol tersebut sesuai, hasil

dapat dikeluarkan. Apabila kontrol negatif memberi hasil positif (terkontaminasi), maka hasil uji spesimen pasien yang positif tidak boleh dikeluarkan sampai diketahui sumber kontaminasinya.

4) Amplifikasi di area 3

Di dalam area 3 ini, risiko kontaminasi berkurang namun tetap diperhatikan bahwa setelah bekerja di area ini tidak boleh kembali ke area 1 atau 2 dalam *shift* yang sama. Bila digunakan metode PCR yang membuka tabung pada pasca analisis, misalnya melihat produk amplikon menggunakan gel elektroforesis atau akan dilakukan sekuensing, maka sebaiknya dilakukan dalam DAB atau BSC. Setelah pekerjaan selesai, dilakukan dekontaminasi meja kerja dan semua peralatan yang akan dibawa keluar lab (misalnya rak) menggunakan *bleach*, etanol dan DNA/RNA-*destroying agent*. Analis atau petugas laboratorium tidak boleh membawa sarung tangan ataupun kertas apapun dari area 3 ini ke area 1 atau 2.

d. Kendali mutu pemeriksaan

Penjaminan mutu reaksi amplifikasi dilakukan dengan menambahkan kontrol internal, kontrol negatif, kontrol positif, dan kontrol reagen pada setiap reaksi. Penggunaan kontrol internal dan kontrol reagen dapat ditambahkan sesuai kebutuhan.

1) Kontrol internal (*internal control*, IC) untuk mengetahui masalah yang mungkin timbul saat proses ekstraksi, selama amplifikasi dalam mesin PCR berlangsung, dan adanya inhibitor reaksi yang mempengaruhi reaksi amplifikasi. Kontrol internal dibutuhkan bila terdapat risiko adanya inhibitor di dalam spesimen.
2) Kontrol negatif (hanya berisi *mastermix*, tanpa *template* DNA) untuk memastikan tidak terdapat kontaminasi pada tahap pembuatan *mastermix* atau ekstraksi DNA/RNA
3) Kontrol positif untuk mendeteksi kegagalan ekstraksi dan amplifikasi

Pemeriksaan PCR secara kuantitatif dapat dilakukan untuk mendeteksi virus laten seperti *Cytomegalovirus* (CMV), *Epstein-Barr virus* (EBV), and *Human Herpesvirus* 6 (HHV-6), atau pemeriksaan *viral load*, misalnya *Human Immunodeficiency Virus* (HIV). Kendali mutu pemeriksaan PCR kuantitatif dapat dilakukan menggunakan

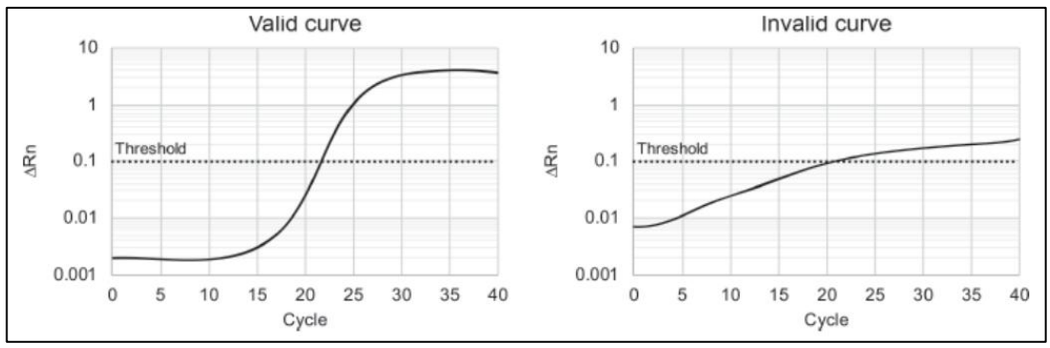
Levey-Jennings plots. Selain itu juga bisa menggunakan *Westgard's multirule analysis* untuk memastikan reaksi amplifikasi berjalan dengan baik, terutama bila terdapat pengukuran kontrol multipel, misalnya pada deteksi kuantitatif beberapa virus sekaligus.

3. Fase pasca-analisis

Ketika reaksi amplifikasi sudah selesai, analisis kendali mutu harus dilakukan sebelum menginterpretasi hasil spesimen pasien.

a. Kontrol internal (*internal control*, IC): Bila gen target tidak terdeteksi pada spesimen, maka terdeteksinya kontrol internal adalah untuk menyingkirkan kemungkinan hasil negatif palsu. Bila kontrol internal tidak terdeteksi meskipun reaksi telah diulang, maka hasil ditulis "*indeterminate*", hal ini mungkin terjadi akibat adanya inhibitor reaksi. Bila kontrol internal tidak terdeteksi pada hasil yang positif, maka hasil positif dapat dikeluarkan karena terdeteksinya amplikon sudah cukup menunjukkan tidak adanya inhibitor reaksi atau kegagalan ekstraksi.
b. Kontrol negatif: Hasil reaksi tabung kontrol negatif tidak boleh menunjukkan terdeteksinya amplikon untuk menjamin tidak adanya masalah kontaminasi atau positif palsu. Bila pada kontrol negatif terdeteksi adanya gen, semua spesimen pasien harus diuji ulang dengan menyertakan kontrol negatif juga, untuk menyingkirkan hasil positif palsu.
c. Kontrol positif: Pada kontrol positif gen target harus terdeteksi yang menunjukkan bahwa tidak ada masalah dalam proses ekstraksi atau reaksi amplifikasi. Bila kontrol positif tidak terdapat gen target, maka semua hasil spesimen yang negatif harus diulang disertai kontrol positif dan negatif.

Selain memastikan hasil reaksi kontrol sesuai, harus diperhatikan kurva amplifikasi yang terbentuk untuk menyingkirkan kemungkinan hasil positif palsu atau hasil amplifikasi yang tidak spesifik. Nilai *cycle threshold* (CT) yang terlihat sebagai kurva amplifikasi adalah siklus reaksi amplifikasi yang terjadi hingga gen yang diamplifikasi mencapai batas deteksi. Nilai CT juga digunakan sebagai kendali mutu. Nilai CT yang rendah menunjukkan terdapatnya gen target dalam jumlah banyak di dalam spesimen, dan sebaliknya nilai CT yang tinggi menunjukkan bahwa spesimen mengandung sedikit gen target



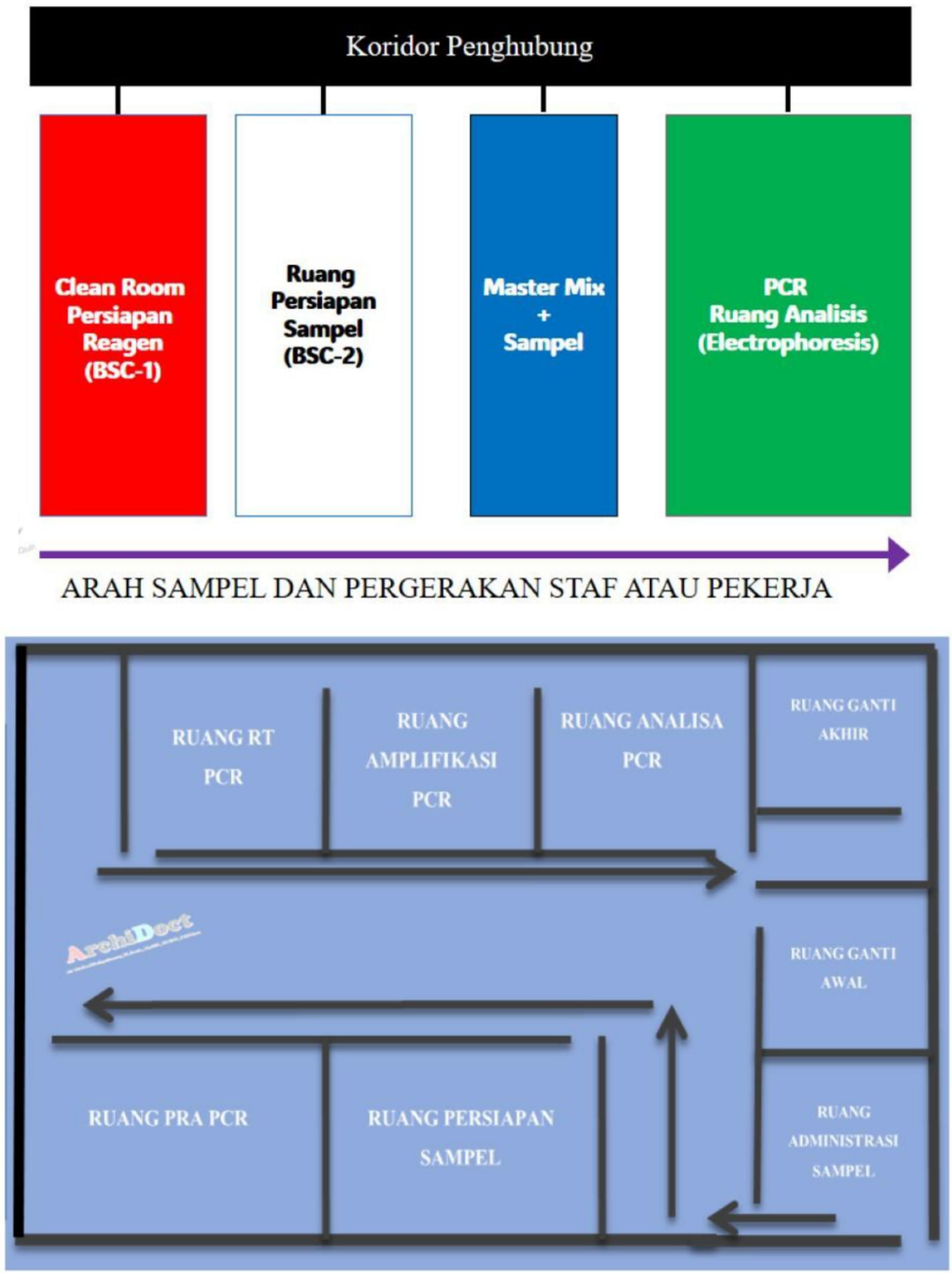
Gambar 2. Contoh kurva amplifikasi yang valid dan tidak valid.

Pada kurva amplifikasi diatas, axis X Adalah jumlah siklus, axis Y adalah ΔRn (*normalized reporter value*) dengan skala logaritma. Kurva valid harus menunjukkan peningkatan eksponensial dan kurva berbentuk sigmoid. Kurva invalid bila kurva terlihat tidak eksponensial atau seperti garis lurus dan meskipun melewati faris batas dianggap sebagai hasil positif palsu atau amplifikasi tidak spesifik.

Pelaporan hasil pada pemeriksaan PCR secara kualitatif adalah "terdeteksi" atau "tidak terdeteksi". Pada hasil PCR kuantitatif dituliskan jumlah DNA atau RNA dalam "*copies per milliliter*" atau "*international units per milliliter*" sesuai petunjuk manual reagen. Pelaporan hasil sebagai hasil kritis tergantung pada prosedur operasional baku di masing-masing fasilitas layanan kesehatan. Seringkali hasil kritis adalah dari pemeriksaan spesimen daerah steril termasuk dalam hasil kritis yang harus segera disampaikan (dalam 10 menit) kepada dokter klinisi yang meminta pemeriksaan.

Bila hasil reaksi kontrol dan kurva amplifikasi tidak sesuai, maka reaksi harus diulang dan melakukan beberapa hal berikut ini:

a. Menggunakan kontrol baru dari tabung alikuot yang berbeda
b. Menggunakan reagen dari tabung alikuot yang berbeda
c. Melakukan investigasi pada mesin PCR ataupun alat lain yang digunakan dan memastikan bahwa perawatan dan kaliberasi alat telah dilakukan
d. Memastikan analis laboratorium telah bekerja dengan baik sesuai keahlian yang dibutuhkan.



Gambar 3. Contoh denah laboratorium PCR

F. Pengendalian mutu

Seperti telah dijelaskan bahwa kualitas spesimen sangat menentukan hasil pemeriksaan dan interpretasinya. Oleh karenanya ketika sampai di laboratorium spesimen harus diperiksa kualitasnya. Bila tidak memenuhi syarat, maka spesimen ditolak untuk diminta pengambilan ulang atau bila tidak memungkinkan pengambilan ulang maka dapat dilanjutkan ke fase analisis dengan catatan khusus.

Edukasi fase pra analisis harus dilakukan secara terus menerus untuk meningkatkan kualitas pelayanan mikrobiologi. Permasalahan fase ini perlu didata salah satunya dengan pengisian tabel dibawah ini setiap bulan.

Tabel 4

Penyebab penolakan spesimen dan frekuensi penolakan setiap bulan.

Alasan penolakan	Jumlah spesimen yang ditolak		
	Agustus	September	Oktober
Penulisan label tidak lengkap			
Formulir permintaan tidak ditulis lengkap			
Volumen spesimen terlalu sedikit			
Waktu tansport lebih dari ketentuan			
Suhu selama transportasi tidak sesuai			
Swab dikirim tanpa medium transport			
Medium transport kadaluarsa			
Alasan lainnya …			

Pendataan juga bisa dilakukan berdasarkan ruangan pengirim spesimen, sehingga intervensi bisa dilakukan sesuai kebutuhan.

Tabel 5

Persentase penolakan spesimen berdasarkan ruangan pengirim.

Ruangan	Persentase spesimen yang ditolak		
	Agustus	September	Oktober
Intensive care unit (ICU)			
Neonatal intensive care unit (NICU)			
Unit Gawat Darurat (UGD)			
Ruang rawat anak			
Ruang rawat penyakit dalam			
Ruang bedah/tindakan			
Ruang lainnya			

BAB III
PEMERIKSAAN PCR DALAM PROGRAM PPRA

Pemeriksaan *multiplex* PCR dapat digunakan untuk mendukung program pengendalian resistansi antimikroba dengan membantu mengidentifikasi patogen penyebab infeksi sehingga dapat mengarahkan keputusan pemberian antibiotika. Pada PCR yang memiliki kemampuan mendeteksi virus maka PCR dapat membedakan patogen penyebab infeksi apakah virus atau bakteri. Selain itu panel PCR dapat membantu menentukan pemilihan antibiotika dengan cepat. Tes ini dapat mengidentifikasi bakteri, virus, fungi, dan beberapa gen resistansi antibiotik penting.

A. Keuntungan dan keterbatasan pemeriksaan PCR

Meskipun memiliki berbagai keunggulan, penggunaan multiplex PCR juga memiliki keterbatasan, berikut adalah keuntungan dan keterbatasan pemeriksaan PCR ditinjau dari beberapa aspek.

Tabel 6
Keuntungan dan Keterbatasan Pemeriksaan PCR

Aspek	Keunggulan	Keterbatasan
Kecepatan Deteksi mikroba	Deteksi berbagai patogen (bakteri, virus, dan jamur) secara simultan dalam satu reaksi, sehingga hasil dapat diperoleh dalam hitungan jam dan jauh lebih cepat dibandingkan metode kultur konvensional Deteksi dini ini mendukung pemberian terapi yang lebih cepat dan tepat.	Deteksi patogen menggunakan *Multiplex* PCR terbatas pada panel yang tersedia. Pemeriksaan PCR tidak dapat digunakan untuk pemantauan terapi *(test of cure)*

Aspek	Keunggulan	Keterbatasan
Sensitivitas dan Spesifisitas	Memiliki sensitivitas dan spesifisitas tinggi, bahkan pada jumlah mikroorganisme yang rendah atau patogen yang sulit tumbuh pada media kultur. Hal ini bermanfaat pada kasus infeksi dengan hasil kultur negatif, terutama pada pasien yang telah menerima antibiotik sebelumnya.	Sensitivitas yang tinggi dapat mendeteksi materi genetik patogen yang tidak selalu mencerminkan infeksi aktif (patogen tidak hidup atau kolonisasi) dan memerlukan korelasi klinis yang mendalam
Deteksi gen resisten	Mampu mendeteksi adanya gen resistansi spesifik pada mikroba penyebab infeksi secara cepat (misalnya: gen MRSA, VRE atau KPC)	1. Gen resisten yang terdeteksi belum tentu mencerminkan fenotip resisten patogen tersebut (ekspresi gen bisa berbeda dalam tubuh) 2. Tidak dapat mendeteksi resistansi yang bukan disebabkan mutasi genetik (misalnya perubahan membran sel)
Deteksi infeksi polimikroba	Sangat berguna pada kasus infeksi poli mikroba, (misalnya seperti pneumonia atau infeksi intra abdomen), karena mampu memberikan gambaran etiologi yang lebih	Apabila dideteksi poli mikroba, hal ini dapat menyulitkan penentuan mikroba utama penyebab infeksi tanpa korelasi klinis dan pertanda infeksi (misalnya: C-

Aspek	Keunggulan	Keterbatasan
	lengkap dalam waktu singkat.	Reactive Protein, Procalcitonin) yang memadai
Dampak terhadap terapi antimikroba	Identifikasi patogen yang lebih akurat memungkinkan pengendalian penggunaan antibiotik empiris yang tidak perlu dan mendukung program Penatagunaan antimikroba (PGA).	1. Risiko *overdiagnosis* dan *overtreatment* (penyalah gunaan antimikroba) dapat terjadi bila hasil tidak diinterpretasikan dalam konteks klinis yang tepat. 2. Pemeriksaan PCR tidak menghasilkan informasi kepekaan terhadap antimikroba (antibiogram) sehingga tidak dapat menggantikan kultur untuk terapi definitif
3. Biaya dan aksesbilitas		Pemeriksaan PCR memerlukan peralatan khusus dan biaya yang relatif tinggi, sehingga penggunaannya masih terbatas.

Mengingat berbagai keunggulan dan keterbatasan pemeriksaan PCR, pemanfaatannya wajib didukung oleh sumber daya manusia yang kompeten dalam melakukan interpretasi hasil secara komprehensif. Dalam rangka optimasi pemberian antibiotik berbasis hasil PCR, rumah sakit harus menyiapkan tim multidisiplin di luar staf laboratorium, yang meliputi:

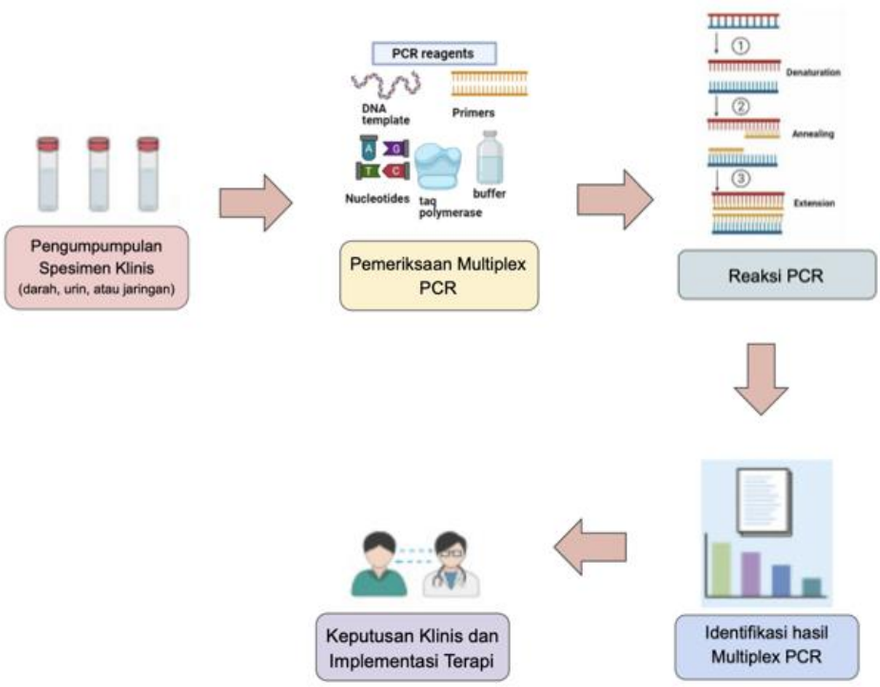
1. Konsultan Infeksi (Sp.PD-KPTI atau Sp.A-KPTI).
2. Konsultan *Intensive Care* (Sp.An-TI-KIC).

3. Tim Penatagunaan Antimikroba (PGA).

B. Indikasi Pemeriksaan PCR

Untuk memastikan efektivitas biaya dan ketepatan klinis, pemeriksaan PCR (khususnya panel sindromik) disarankan dilakukan pada pasien dengan kondisi sebagai berikut:

1. Sepsis atau Syok Sepsis: Di mana identifikasi patogen yang cepat sangat krusial untuk menurunkan angka mortalitas.
2. Kecurigaan Infeksi Sistem Saraf Pusat: Pasien dengan tersangka meningitis atau ensefalitis yang membutuhkan diagnosis cepat guna memulai terapi empiris atau spesifik.
3. Infeksi Saluran Napas Bawah Berat: Termasuk Pneumonia Berat, *Community-Acquired Pneumonia* (CAP) derajat berat, serta *Ventilator-Associated Pneumonia* (VAP).
4. Readmisi Infeksi: Pasien yang dirawat kembali dengan dugaan kegagalan terapi infeksi sebelumnya atau infeksi berulang.



Gambar 4. Alur Pemeriksaan PCR

Kondisi infeksi pada pasien harus ditegakkan oleh Dokter Spesialis atau Konsultan terkait berdasarkan:

a. Kondisi Klinis: Gejala dan tanda klinis yang mengarah pada infeksi sistemik atau lokal.

b. Data Penunjang: Hasil laboratorium rutin (seperti Leukosit, Laju Endap Darah), penanda inflamasi (seperti Prokalsitonin atau CRP), serta pemeriksaan radiologi yang relevan.

C. Interpretasi Hasil Pemeriksaan PCR

Interpretasi hasil PCR tidak boleh dilakukan secara terisolasi. Penentuan signifikansi klinis harus mempertimbangkan poin-poin berikut:

1. Korelasi dengan Gambaran Klinis Pasien.
   Hasil positif harus dikonfirmasi dengan gejala klinis, riwayat penyakit, faktor risiko, dan status imun pasien. Hasil positif tanpa dukungan manifestasi klinis yang relevan lebih mungkin menunjukkan kolonisasi atau kontaminasi daripada infeksi aktif.
2. Korelasi dengan Pemeriksaan Penunjang.
   Hasil PCR wajib disandingkan dengan parameter laboratorium lain seperti hitung jenis leukosit, *C-Reactive Protein* (CRP), dan procalcitonin, serta temuan radiologi untuk memastikan adanya respon inflamasi yang sistemik.

D. Pertimbangan Sumber Spesimen

1. Sampel Steril (mis. darah, cairan serebrospinal/LCS): Deteksi patogen memiliki nilai prediktif positif yang tinggi dan umumnya mengindikasikan infeksi nyata.
2. Sampel Non-Steril (mis. sputum, tinja, swab tenggorok): Hasil harus ditafsirkan dengan sangat hati-hati karena adanya risiko deteksi flora normal atau kolonisasi.

E. Pemanfaatan Nilai Semi-Kuantitatif (*Cycle Threshold* - Ct Value)
Pada qPCR, nilai Ct memberikan gambaran beban patogen (*pathogen load*). Nilai Ct yang rendah (menunjukkan beban patogen tinggi) lebih mungkin menjadi penyebab klinis infeksi dibandingkan nilai Ct yang tinggi (beban patogen rendah), yang mungkin hanya mencerminkan flora normal atau residu DNA pasca-infeksi.

F. Kewaspadaan terhadap Deteksi Multipel (*Multiple Detection*)

Apabila *Multiplex PCR* mendeteksi lebih dari satu organisme:

1. Tidak semua organisme yang terdeteksi otomatis dianggap sebagai penyebab infeksi (etiologi utama).

2. Identifikasi organisme yang paling sesuai dengan gejala utama pasien.

G. Peran Tim Penatagunaan Antimikroba (PGA)

Tim PGA rumah sakit wajib terlibat aktif dalam implementasi pemeriksaan PCR melalui:

1. Rekomendasi Pemeriksaan: Memberikan panduan penggunaan PCR pada pasien dengan kecurigaan patogen yang sulit dikultur (mis. bakteri atipikal, *M. tuberculosis*, atau virus pada pneumonia komunitas) serta pada pasien sakit kritis yang membutuhkan terapi definitif segera.
2. Intervensi Terapi: Apabila hasil PCR menunjukkan infeksi disebabkan oleh virus atau mikroba yang tidak memerlukan/merespon antibiotik, Tim PGA memberikan rekomendasi penghentian (*de-escalation*) atau penyesuaian terapi antimikroba secara tepat.

H. Evaluasi Dampak Program

Rumah sakit wajib melakukan evaluasi secara berkala terhadap efektivitas penerapan PCR dalam Program Pengendalian Resistansi Antimikroba (PPRA), meliputi indikator:

1. Kualitas Pelayanan: Dinilai dari ketepatan tata laksana dan perbaikan parameter infeksi pasien.
2. Lama Perawatan (*Length of Stay*): Efisiensi waktu perawatan pasca-diagnosis cepat.
3. Angka Mortalitas: Dampak deteksi dini terhadap tingkat keselamatan pasien.
4. Analisis Biaya (*Cost-Effectiveness*): Evaluasi total biaya perawatan pasien dibandingkan dengan penghematan dari pengurangan penggunaan antibiotik yang tidak perlu.

BAB IV
PEMBINAAN DAN PENGAWASAN

A. Tujuan Pembinaan dan Pengawasan

Pembinaan dan pengawasan pemeriksaan Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan bagian yang tidak terpisahkan dari upaya penjaminan mutu pelayanan laboratorium serta penguatan program Pengendalian Resistansi Antimikroba (PPRA) dan Pencegahan dan Pengendalian Infeksi (PPI) di fasilitas pelayanan kesehatan. Pelaksanaan pembinaan dan pengawasan bertujuan untuk menjamin bahwa pemeriksaan PCR dilakukan secara akurat, aman, bermutu, serta dimanfaatkan secara rasional sesuai indikasi klinis dan prinsip penatalayanan diagnostik (diagnostic stewardship).

B. Ruang Lingkup Pembinaan

Pembinaan dilakukan secara berjenjang oleh Kementerian Kesehatan, Dinas Kesehatan Provinsi dan Kabupaten/Kota, serta pimpinan fasilitas pelayanan kesehatan sesuai dengan kewenangannya. Pembinaan mencakup aspek regulasi, teknis, sumber daya manusia, sistem mutu, dan tata kelola klinis. Dalam aspek regulasi, pembinaan diarahkan pada sosialisasi dan implementasi pedoman pemeriksaan PCR serta integrasinya ke dalam kebijakan internal rumah sakit, termasuk kebijakan PPRA, PPI, dan sistem surveilans infeksi. Penyelarasan kebijakan ini penting agar pemeriksaan PCR tidak berjalan secara terpisah, melainkan menjadi bagian dari sistem pelayanan yang terintegrasi.

Dalam aspek teknis, pembinaan ditujukan untuk memastikan bahwa seluruh tahapan pemeriksaan PCR, mulai dari fase pra-analitik, analitik, hingga pasca-analitik, dilaksanakan sesuai standar operasional prosedur dan prinsip biosafety yang berlaku. Peningkatan kompetensi sumber daya manusia dilakukan melalui pelatihan, sertifikasi, serta pembaruan pengetahuan secara berkala bagi tenaga analis laboratorium dan dokter penanggung jawab laboratorium. Kompetensi dalam interpretasi hasil menjadi perhatian khusus, mengingat hasil PCR harus selalu dikorelasikan dengan kondisi klinis pasien dan pemeriksaan penunjang lainnya.

Pembinaan sistem mutu laboratorium meliputi penerapan kendali mutu internal secara rutin, keikutsertaan dalam program uji profisiensi atau External Quality Assessment (EQA), serta pelaksanaan audit mutu internal

secara berkala. Evaluasi mutu tidak hanya menilai keakuratan hasil, tetapi juga mencakup Turn Around Time (TAT), angka kontaminasi, serta kepatuhan terhadap alur kerja laboratorium satu arah (unidirectional workflow). Upaya ini bertujuan untuk mencegah kesalahan teknis yang dapat mempengaruhi validitas hasil pemeriksaan.

C. Pengawasan

Pengawasan dilakukan untuk memastikan kepatuhan terhadap pedoman dan standar mutu pemeriksaan PCR. Pengawasan terhadap pelaksanaan pemeriksaan PCR dilakukan secara internal dan eksternal

1. Pengawasan Internal

   Dilakukan oleh pimpinan fasilitas pelayanan kesehatan dan dokter penanggung jawab laboratorium, hasil pengawasan internal dilaporkan secara berkala kepada manajemen dan tim PPRA/PPI.

2. Pengawasan Eksternal

   Pengawasan eksternal dilaksanakan oleh instansi pembina sesuai kewenangannya yang dilakukan oleh Kementerian Kesehatan, Dinas Kesehatan Provinsi/Kabupaten/Kota. Pengawasan eksternal dapat berupa supervisi teknis, dan audit mutu laboratorium.

BAB V
PENUTUP

Pada tahun 2026, peran *diagnostic stewardship* berbasis PCR di Indonesia menjadi semakin strategis di tengah meningkatnya krisis resistansi antimikroba (AMR). AMR telah berkembang menjadi ancaman kesehatan global yang nyata, sebagaimana ditegaskan dalam *Global Action Plan on Antimicrobial Resistance* oleh World Health Organization. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat, baik karena indikasi yang tidak akurat, durasi yang berlebihan, maupun pemilihan agen yang tidak sesuai telah mempercepat kegagalan terapi infeksi dan meningkatkan angka morbiditas, mortalitas, serta beban biaya kesehatan.

Dalam konteks tersebut, *diagnostic stewardship* memegang peranan vital. Pendekatan ini tidak hanya berbicara tentang penggunaan teknologi diagnostik canggih, tetapi juga memastikan bahwa proses klinis berjalan secara rasional, mulai dari pemilihan pasien yang tepat untuk diperiksa, pengambilan dan pengiriman spesimen yang benar, pemilihan metode pemeriksaan yang sesuai, hingga interpretasi hasil laboratorium yang akurat untuk mendukung keputusan terapi. Dengan sistem diagnostic stewardship yang kuat, pemeriksaan tidak lagi sekadar menjadi prosedur rutin, tetapi menjadi alat strategis untuk mengarahkan terapi antimikroba secara presisi.

Metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)* menawarkan keunggulan signifikan di era AMR. Dibandingkan metode kultur konvensional yang memerlukan waktu beberapa hari, PCR mampu memberikan hasil dalam hitungan jam dengan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi. Lebih jauh, teknologi ini memungkinkan deteksi gen resistansi secara langsung, seperti gen NDM-1 atau KPC, yang berperan dalam resistansi terhadap karbapenem. Identifikasi dini terhadap gen-gen ini memungkinkan klinisi memilih terapi yang lebih tepat sejak awal, mengurangi penggunaan antibiotik spektrum luas secara empiris yang berlebihan, serta mendukung program Penatagunaan Antimikroba (PGA/AMS).

Namun demikian, PCR juga memiliki keterbatasan yang perlu dipertimbangkan secara realistis. Investasi awal untuk pengadaan alat dan reagen relatif tinggi, serta memerlukan sumber daya manusia yang terlatih dalam teknik molekuler dan interpretasi hasil. Selain itu, PCR tidak dapat membedakan antara DNA dari organisme hidup dan mati, sehingga

interpretasi klinis harus dikorelasikan dengan kondisi pasien. PCR juga tidak memberikan nilai *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)*, yang tetap memerlukan uji kultur dan uji kepekaan antibiotik konvensional.

Bagi Indonesia, penguatan pemeriksaan berbasis PCR sangat relevan sebagai bagian dari Strategi Nasional Pengendalian AMR dan pendekatan *One Health*. Walaupun tantangan pembiayaan dan pemerataan akses masih menjadi kendala, manfaat jangka panjangnya signifikan. Diagnosis yang lebih cepat berpotensi menurunkan durasi rawat inap, mengurangi penggunaan antibiotik yang tidak perlu, serta mencegah penyebaran bakteri resisten di fasilitas pelayanan kesehatan. Dalam konteks surveilans nasional, data molekuler dari PCR juga dapat memperkaya pemetaan pola resistansi dan mempercepat respons terhadap potensi wabah.

Dengan demikian, pada tahun 2026, pemeriksaan berbasis PCR tidak hanya menjadi alat diagnostik tambahan, tetapi telah berkembang menjadi salah satu pilar utama *diagnostic stewardship* di Indonesia. Meskipun memerlukan investasi infrastruktur dan penguatan kapasitas laboratorium, keunggulannya dalam mendeteksi AMR secara cepat dan presisi jauh melampaui keterbatasannya. Implementasi yang terintegrasi dengan program PPRA, surveilans nasional, dan kebijakan kesehatan akan memperkuat ketahanan sistem kesehatan Indonesia dalam menghadapi ancaman resistansi antimikroba yang semakin kompleks.

DIREKTUR JENDERAL KESEHATAN LANJUTAN,

ttd.

AZHAR JAYA

Salinan sesuai dengan aslinya
Ketua Tim Kerja Hukum
Sekretariat Direktorat Jenderal Kesehatan Lanjutan

Rico Mardiansyah, SH, MH
NIP 198603192010121004