

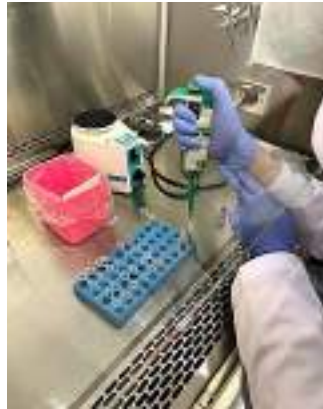
LAMPIRAN

Lampiran 1

Dokumentasi Penelitian



Sampel di centrifuge 3000 rpm selama 10-15 menit



Pemisahan plasma



Homogenisasi plasma



Plasma dimasukkan ke ziplock



Plasma disimpan di freezer -20°C



Persiapan alat dan bahan ekstraksi



Penambahan 900 ul RBC Lysis Buffer



Centrifuge 3000 xg selama 5 menit



Penambahan 100 ul RBC Lysis Buffer



Penambahan 30 ul Internal Control (IC)



Penambahan 200 ul GB Buffer



Inkubasi pada suhu 60°C selama 10 menit



Penambahan 200 ul Etanol Absolute



Memindahkan sampel ke dalam kolom GD



Centrifuge 14.000-16.000 xg selama 5 menit



Penambahan 400 ul Buffer W1



Penambahan 600 ul Wash Buffer



Centrifuge 14.000-16.000 xg selama 30-60 detik



Buang cairan pada tabung collection tube 2 ml



Centrifuge 14.000-16.000 xg selama 3 menit



Pemindahan kolom GD ke tabung microcentrifuge 1,5 ml



Penambahan 100 ul Elution Buffer



Penambahan 100 ul aquabidest



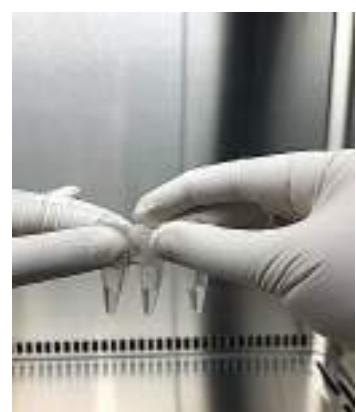
Centrifuge 14.000-16.000 xg selama 30 detik



Centrifuge 14.000-16.000 xg selama 3 menit



DNA yang telah selesai di ekstraksi di hari ke-0 (kontrol)



DNA yang telah selesai di ekstraksi di hari ke-1



DNA yang telah selesai di ekstraksi di hari ke-3



DNA yang telah selesai di ekstraksi di hari ke-7



Menyiapkan tabung RMM



Memasukkan 50 µl DNA ke dalam tabung RMM



Menghidupkan komputer dan pilih menu *Real-Time* PCR



Memasukkan tabung RMM ke dalam mesin *Real-Time* PCR



Pilih edit plate dan klik run metode



Proses running sedang berjalan

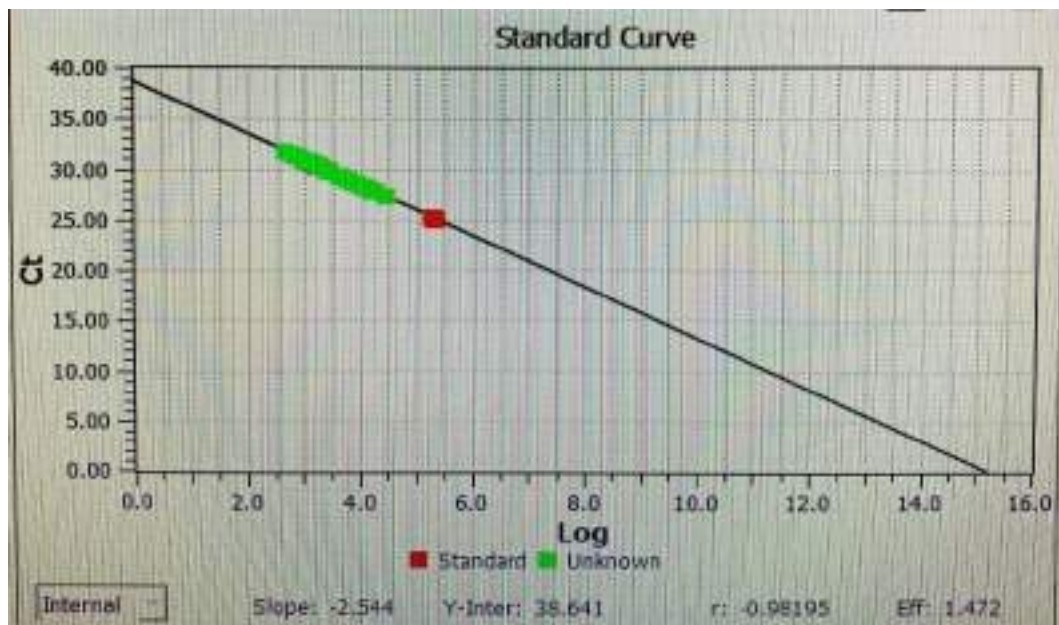


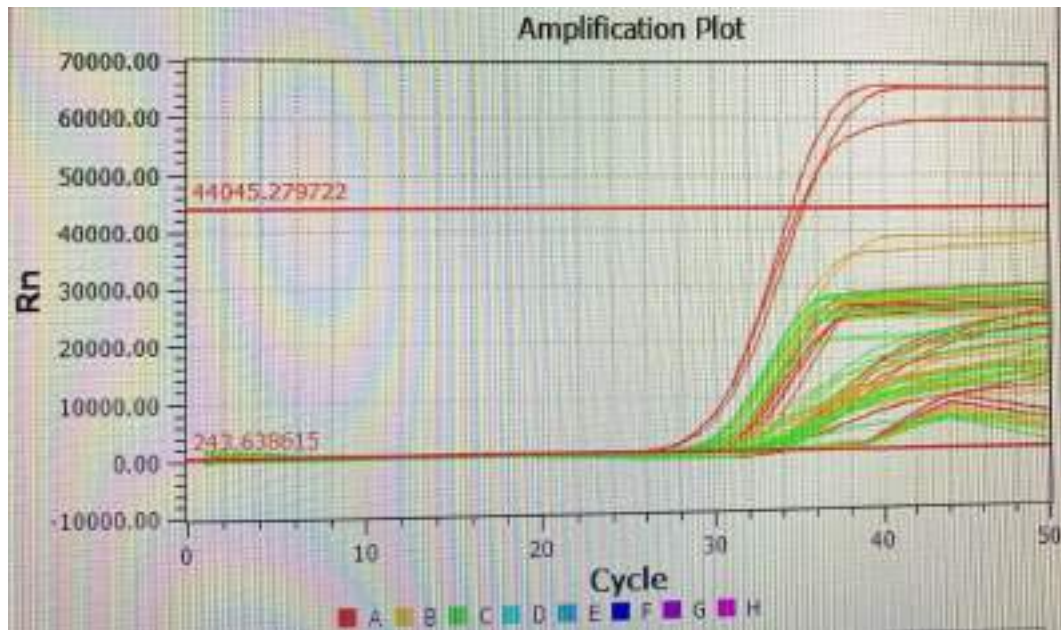
Hasil pemeriksaan telah didapat yaitu nilai kuantitas HBV DNA (nilai Cn)

Lampiran 2

Hasil Pemeriksaan *Real-Time* PCR

No.	Hari	Nama Sampel	Kuantitas HBV DNA (IU/mL)
1.	Hari ke-0 (Sampel Kontrol)	K1	3922,807
2.	Hari ke-0 (Sampel Kontrol)	K2	13194,17
3.	Hari ke-0 (Sampel Kontrol)	K3	2649,339
4.	Hari ke-1 (Sampel)	H1	5568,475
5.	Hari ke-1 (Sampel)	H1	7163,609
6.	Hari ke-1 (Sampel)	H1	5501,471
7.	Hari ke-3 (Sampel)	H3	2571,600
8.	Hari ke-3 (Sampel)	H3	1702,310
9.	Hari ke-3 (Sampel)	H3	9740,378
10.	Hari ke-7 (Sampel)	H7	1811,153
11.	Hari ke-7 (Sampel)	H7	607,203
12.	Hari ke-7 (Sampel)	H7	1266,376





Mengetahui,

Validator Laboratorium/Laboran

Ria Yunita, SKM

Pembimbing Utama

Nurminha, S.Pd., M.Sc

Pembimbing Pendamping

Dr. dr. Hidayat, Sp. PK., Subsp. PL (K), M.Kes

Lampiran 3

Keterangan Layak Etik



Kementerian Kesehatan
Poltekkes Tanjungkarang

📍 Jalan Soekarno Hatta No.6 Bandar Lampung
Lampung 35145
☎ (0721) 783832
🌐 <https://poltekkes-tjk.ac.id>

KETERANGAN LAYAK ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL EXEMPTION
"ETHICAL EXEMPTION"

No.077/KEPK-LIK/IB/2025

Protokol penelitian versi 1 yang diusulkan oleh:
The research protocol proposed by

Peneliti utama : Harry Lestari
Principal In Investigator

Nama Institusi : Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang
Name of the Institution

Dengan judul:
Title

"Pengaruh Lama Waktu Penyimpanan Plasma Pada Pasien Positif Hepatitis B Terhadap Kuantitas HBV DNA Menggunakan Metode Real-Time PCR"

"The Effect of Plasma Storage Time in Hepatitis B Positive Patients on HBV DNA Quantity Using the Real-Time PCR Method"

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang terdapat pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Layak Etik ini berlaku selama kurang waktu tanggal 27 Maret 2025 sampai dengan tanggal 27 Maret 2026.
This declaration of ethics applies during the period March 27, 2025 until March 27, 2026.



March 27, 2025
Chairperson,

Dr. Aptia, S.Kp., M.Kes

Lampiran 4

Surat Izin Penelitian



Kementerian Kesehatan
Direktorat Jenderal
Sumber Daya Manusia Kesehatan
Politeknik Kesehatan Tanjungkarang
Jalan Soekarno Hatta Km.6 Bandar Lampung
Lampung 35143
☎ 0710 781012
🌐 <https://www.poltekkes-sdman.go.id>

Nomor : PP.01.04/F.XXXV/2342/2025
Lampiran : 1 eks
Hal : Izin Penelitian

25 April 2025

Yth, Direktur RSUD, Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung
Di- Tempat

Sehubungan dengan penyusunan Skripsi bagi mahasiswa Tingkat IV Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Tanjungkarang Tahun Akademik 2024/2025, maka dengan ini kami mengajukan permohonan izin penelitian bagi mahasiswa di institusi yang Bapak/Ibu Pimpin. Adapun mahasiswa yang melakukan penelitian adalah sebagai berikut:

No	MAHASISWA	JUDUL	TEMPAT PENELITIAN
1.	Hanny Lestari NIM 2113353009	Pengaruh Lama Waktu Penyimpanan Plasma Pada Pasien Positif Hepatitis B Terhadap Kuantitas HBV DNA Menggunakan Metode Real-Time PCR	RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung

Atas perhatian dan kerjasamanya diucapkan terima kasih.


Direktur
Dewi Purwaringsih, SsiT, M.Kes
NIP.196705271968012001

Tembusan:
1. Ka Jurusan Teknologi Laboratorium Medis
2. Ka Bid. Diklat

Kementerian Kesehatan tidak menerima suap dan/atau gratifikasi dalam bentuk apapun. Jika terdapat potensi suap atau gratifikasi silakan laporkan melalui HALO KEMENKES 1500567 dan <https://halo.kemkes.go.id>. Untuk verifikasi keaslian tanda tangan elektronik, silakan unggah dokumen pada laman <https://ite.kemkes.go.id/verifikasiPDF>.



Lampiran 5

Surat Izin Pre Survey di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek

	PEMERINTAH PROVINSI LAMPUNG R S U D Dr. H. ABDUL MOELOEK BADAN LAYANAN UMUM DAERAH (BLUD) Jl. dr. Rivai No. 6 Telp. 0721 703312 Fax. 702306 Bandar Lampung 35112 Laman : https://www.rsudam.lampungprov.go.id Pos-el: humasrsudam23@gmail.com													
Bandar Lampung, 29 April 2025														
Nomor	:	000.9.2/0705/MLB/IV/2025												
Sifat	:	Biasa												
Lampiran	:	-												
Perihal	:	Izin Pre Survey												
Kepada Yth, Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Tanjung Karang di Bandar Lampung Menjawab surat Saudara Nomor : PP.03.04/F.XLIB/910/2025 Tanggal 23 April 2025, perihal tersebut pada pokok surat, atas nama : <table border="0"><tr><td>Nama</td><td>:</td><td>Henry Lestari</td></tr><tr><td>NIM</td><td>:</td><td>2113353009</td></tr><tr><td>Prodi</td><td>:</td><td>D4 Teknologi Laboratorium Medis</td></tr><tr><td>Judul</td><td>:</td><td>Pengaruh Lama Waktu Penyimpanan Plasma Pada Pasien Positif Hepatitis B Terhadap Kuantitas HBV DNA Menggunakan Metode Real-Time PCR di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung</td></tr></table> Dengan ini kami informasikan bahwa untuk kepentingan pre survey yang bersangkutan Kami Izin Kan Mengambil data awal sebagai pre elementary study di Instalasi Rekam Medis Dan Instalasi Diklat RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung dan Dilakukan Di Jam Kerja Tanggal 05 Mei – 05 Juni 2025. Dengan menggunakan APD Yang telah Di Tentukan Oleh Masing Masing Ruangan / Lokasi penelitian. Untuk informasi lebih Lanjut Yang Bersangkutan Dapat Berhubungan Dengan Instalasi Diklat RSUDAM. Selanjutnya diinformasikan bahwa selama melakukan pengambilan data yang bersangkutan perlu memperhatikan hal – hal sebagai berikut : 1. Melapor pada Instalasi Diklat RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung. 2. Data dan hasil penelitian tidak boleh disebarluaskan/ digunakan diluar kepentingan ilmiah. 3. Memberikan laporan hasil penelitian pada Instalasi Diklat RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung 4. Instalasi Diklat RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung berhak atas hasil penelitian untuk pengembangan kegiatan pelayanan kepada masyarakat. 5. Kegiatan tersebut dikenakan biaya sesuai Pergub No. 18 Tahun 2023 Tentang Jenis dan Tarif Layanan Kesehatan di RSUDAM Demikian atas perhatiannya diucapkan terimakasih Tembusan : Ka. Instalasi Rekam Medis a.n Direktur Wakil Direktur Pendidikan Pengembangan SDM & Hukum,  dr. Citra M. Utami, MARS Perebutan Utama Muda NIP : 19740319 200212 2 004			Nama	:	Henry Lestari	NIM	:	2113353009	Prodi	:	D4 Teknologi Laboratorium Medis	Judul	:	Pengaruh Lama Waktu Penyimpanan Plasma Pada Pasien Positif Hepatitis B Terhadap Kuantitas HBV DNA Menggunakan Metode Real-Time PCR di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung
Nama	:	Henry Lestari												
NIM	:	2113353009												
Prodi	:	D4 Teknologi Laboratorium Medis												
Judul	:	Pengaruh Lama Waktu Penyimpanan Plasma Pada Pasien Positif Hepatitis B Terhadap Kuantitas HBV DNA Menggunakan Metode Real-Time PCR di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung												

Lampiran 6

Keterangan Layak Etik di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek



KETERANGAN LAYAK ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL EXEMPTION
"ETHICAL EXEMPTION"
No. 513/KEPK-RSUDAM/2025

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The research protocol proposed by

Peneliti utama : Hanny Lestari
Principal Investigator

Nama institusi : Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang
Name of Institution

Dengan Judul : Pengaruh Lama Waktu Penyimpanan Plasma Pada
Title Pasien Positif Hepatitis B Terhadap Kuantitas HBV DNA
Menggunakan Metode Real-Time PCR di RSUD Dr. H.
Abdul Moeloek Provinsi Lampung

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pomerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/ Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance (po 7 (seven) WHO 2011 standards: 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/ Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Lail Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 12 Mei 2025 sampai dengan tanggal 12 Mei 2026.

This declaration of ethics applies during the period 12 May, 2025 until 12 May 2026.

12 Mei 2025
Ketua Komite Etik

dr. Rogatiana Ragun P, M.Kes., Sp.A(K)
NIP : 19730524 200312 1 005

Lampiran 7

Surat Izin Penelitian di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek



PEMERINTAH PROVINSI LAMPUNG
R S U D Dr. H. ABDUL MOELOEK
BADAN LAYANAN UMUM DAERAH (BLUD)
Jl. dr. Rivai No. 6 Telp. 0721 703312 Fax. 702306
Bandar Lampung 35112



Laman : <https://www.rsudam.lampungprov.go.id> Pos-el: humasrsudam23@gmail.com

Bandar Lampung, 14 Mei 2025

Nomor : 000.9.2/064/5^F ML01M/2025
Sifat : Biasa
Lampiran : -
Perihal : Izin Penelitian

Kepada Yth,
Ketua Politeknik Kesehatan Tanjungkarang
di
Bandar Lampung

Menjawab surat Saudara Nomor: KH.03.01M XXXV 16/003/2025 Tanggal 21 April 2025,
perihal tersebut pada pokok surat, atas nama :

Nama : Hanny Lestari
NIM : 2113353009
Prodi : D4 Teknologi Laboratorium Medis
Judul : Pengaruh Lama Waktu Penyimpanan Plasma Pada Pasien Positif Hepatitis B Terhadap Kuantitas HBV DNA Menggunakan Metode Real-Time PCR di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung

Dengan ini kami informasikan bahwa untuk kepentingan penelitian yang bersangkutan Kami izinkan untuk pengambilan data di Instalasi Laboratorium Patologi Klinik Dan Instalasi Diklat RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung Dan Dilakukan Di Jam Kerja Tanggal : 19 Mei – 19 Juni 2025. Dengan Menggunakan APD yang Telah Ditentukan Oleh Masing Masing Ruangan / Lokasi Penelitian. Untuk Informasi Lebih Lanjut yang Bersangkutan dapat Berhubungan Dengan Instalasi Diklat RSUDAM.

Selanjutnya diinformasikan bahwa selama melakukan pengambilan data yang bersangkutan perlu memperhatikan hal – hal sebagai berikut :

1. Melapor pada Instalasi Diklat RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung.
2. Data dari hasil penelitian tidak boleh disebarluaskan/ digunakan diluar kepentingan ilmiah.
3. Memberikan laporan hasil penelitian pada Bagian Diklat RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung.
4. Instalasi Diklat RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung berhak atas hasil penelitian untuk pengembangan kegiatan pelayanan kepada masyarakat.
5. Kegiatan tersebut dikenakan biaya sesuai Pergub No. 18 Tahun 2023 Tentang Jenis dan Tarif Layanan Kesehatan di RSUDAM.

Demikian atas perhatiannya diucapkan terimakasih

Tembusan :
Ka. Instalasi Lab PK

a.n Direktur
Wakil Direktur Pendidikan
Pengembangan SDM & Hukum,



dr. Elidya M. Ulari, MARS
Perdana Utama Medis
NIP : 19710319 200212 2 004

Lampiran 8

Output Analisa Data dengan Program SPSS

1. Output Hasil Distribusi Frekuensi

Descriptive Statistics					
	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Hari_0	3	2649,34	13194,17	6588,7720	5755,77034
Hari_1	3	5501,47	7163,61	6077,8517	940,89007
Hari_3	3	1702,31	9740,38	4671,4293	4411,30329
Hari_7	3	607,20	1811,15	1228,2441	602,87991
Valid N (listwise)	3				

2. Output Hasil Uji Normalitas Menggunakan *One-Sample Shapiro-Wilk Test*

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Unstandardized Residual	,244	12	,048	,894	12	,132

a. Lilliefors Significance Correction

3. Output Hasil Uji Linieritas

ANOVA Table							
			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Nilai_Cn * Perlakuan	Between Groups	(Combined)	52518557,120	3	17506185,707	1,301	,339
		Linearity	45874552,729	1	45874552,729	3,408	,102
		Deviation from Linearity	6644004,391	2	3322002,196	,247	,787
	Within Groups		107674454,538	8	13459306,817		
	Total		160193011,658	11			

4. Output Hasil Uji Heteroskedastisitas Metode Glejser

Coefficients ^a					
		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	
Model		B	Std. Error	Beta	t
1	(Constant)	4519,641	1422,377		3,178
	Perlakuan	-901,008	519,379	-,481	-1,735

a. Dependent Variable: ABS_RESID

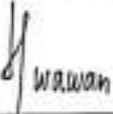
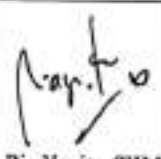
5. Output Hasil Uji *Regression Linier* (Sederhana)

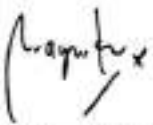
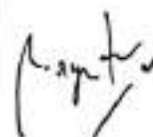
Coefficients ^a					
		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	
Model		B	Std. Error	Beta	t
1	(Constant)	9013,576	2390,800		3,770
	Perlakuan	-1748,801	872,997	-,535	-2,003

a. Dependent Variable: Nilai_Cn

Lampiran 9

Logbook Penelitian

No	Hari/Tanggal/ Jam	Kegiatan	Hasil	Paraf
1.	Rabu, 23 April 2025 08.00-09.00	Menyerahkan surat pre survey dari Poltekkes Tanjungkarang ke pihak RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung	Surat disetujui oleh pihak RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung	 Wawan
2.	Senin, 5 Mei 2025 08.00-10.00	- Melakukan administrasi pre survey di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung - Melakukan pre survey ke rekam medik di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung	- Pembayaran terpenuhi (Iunas) - Mendapat gambaran populasi pasien positif hepatitis B	 Wawan
3.	Selasa, 6 Mei 2025 08.00-09.00	Mengajukan surat izin penelitian dan etik ke pihak RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung	Surat disetujui dan diterima oleh pihak RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung	 Wawan
4.	Selasa, 10 Juni 2025 09.00-10.00	- Pengambilan sampel di Laboratorium Patologi Klinik dan dibawa ke Laboratorium Biologi Molekuler RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung - Sentrifuge sampel (3 tabung EDTA) untuk dipisahkan plasmanya dan dimasukkan ke dalam 4 tabung microcentrifuge 1,5 ml - 3 tabung microcentrifuge 1,5 ml disimpan ke plastik ziplock beserta wadah box lalu disimpan di freezer -20°C - 1 tabung microcentrifuge 1,5 ml sebagai kontrol (Hari ke-0) dibawa ke Laboratorium Biologi Molekuler Poltekkes Tanjungkarang untuk dilakukan tahap ekstraksi DNA dengan pengulangan sebanyak 3 kali	Didapatkan 3 tabung microcentrifuge 1,5 ml yang berisi DNA murni virus hepatitis B dari hasil ekstraksi lalu ditempatkan ke dalam plastik ziplock beserta wadah box untuk disimpan di freezer	 Wawan
5.	Selasa, 10 Juni 2025 10.00-17.00	- Persiapan reagen dan sterilisasi alat - Persiapan sampel (Hari Ke-0) - Melakukan ekstraksi dengan pengulangan sebanyak 3 kali	Didapatkan 3 tabung microcentrifuge 1,5 ml yang berisi DNA murni virus hepatitis B dari hasil ekstraksi lalu ditempatkan ke dalam plastik ziplock beserta wadah box untuk disimpan di freezer	 Ria Yunita, SKM
6.	Rabu, 11 Juni 2025 09.00-13.00	- Persiapan reagen dan sterilisasi alat - Persiapan sampel (Hari Ke-1) - Melakukan ekstraksi dengan pengulangan sebanyak 3 kali	Didapatkan 3 tabung microcentrifuge 1,5 ml yang berisi DNA murni virus hepatitis B dari hasil ekstraksi lalu ditempatkan ke dalam plastik ziplock beserta wadah box untuk disimpan di freezer	 Ria Yunita, SKM

No	Hari/Tanggal/ Jam	Kegiatan	Hasil	Paraf
7.	Jumat, 13 Juni 2025 09.00-13.00	- Persiapan reagen dan sterilisasi alat - Persiapan sampel (Hari Ke-3) - Melakukan ekstraksi dengan pengulangan sebanyak 3 kali	Didapatkan 3 tabung microcentrifuge 1,5 ml yang berisi DNA murni virus hepatitis B dari hasil ekstraksi lalu ditempatkan ke dalam plastik ziplock beserta wadah box untuk disimpan di freezer	 Ria Yunita, SKM
8.	Selasa, 17 Juni 2025 09.00-17.00	- Persiapan reagen dan sterilisasi alat - Persiapan sampel (Hari Ke-7) dan melakukan ekstraksi dengan pengulangan sebanyak 3 kali - Persiapan reagen PC, NC, WPC, CS1, dan CS2 dan melakukan ekstraksi dengan pengulangan sebanyak 3 kali - Melakukan <i>running Real-Time PCR</i> pada seluruh sampel (sampel kontrol (hari ke-0), sampel hari ke-1, sampel hari ke-3, dan sampel hari ke-7)	- Didapatkan 3 tabung microcentrifuge 1,5 ml yang berisi DNA murni virus hepatitis B dari hasil ekstraksi - Didapatkan nilai Cn (Copy Number) dari masing-masing sampel yang terlampir di lampiran 2	 Ria Yunita, SKM

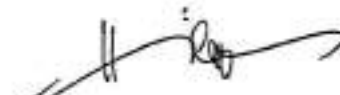
Mengetahui

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping



Nurminha, S.Pd., M.Sc



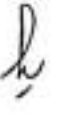
Dr. dr. Hidayat, Sp. PK., Subsp. Pl. (K), M.Kes

Lembar Konsultasi

KARTU BIMBINGAN SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIK PROGRAM SARJANA TERAPAN
TAHUN AKADEMIK 2023-2024

Nama Mahasiswa : Hanny Lestari
 NIM : 2113353009
 Judul Skripsi : Pengaruh Waktu Penghimpunan Plasma pada Jaringan Tositif
 Hepatitis B terhadap Kuantitas HBV DNA menggunakan metode
 Real - Time PCR
 Pembimbing Utama : Nurminha, S.Pd., M.Sc.

No	Tanggal Bimbingan	Materi Bimbingan	Keterangan	paraf
1.	Senin, 06 Januari 2025	Penulisan (Bab 1, 2, 3)	Revisi	
2.	Kamis, 09 Januari 2025	Bab 1 dan II (Latar Belakang, Manfaat Penelitian, Ruang Lingkup, Desain Penelitian, Teknik Pengumpul-	Revisi	
3.	Sabtu, 11 Januari 2025	An Data) Bab 1 dan II (Latar Belakang, Rumusan Masalah, Manfaat Penelitian, Tinjauan Pustaka, Kerangka Teori)	Revisi	
4	Selasa, 14 Januari 2025	Bab III (Subyek Penelitian dan Analisis Data)	Revisi	
5.	Jumat, 17 Januari 2025	Bab III (Analisis Data (Buat Tabel)	Revisi	
6.	Selasa, 21 Januari 2025	Bab I, II, dan III (Pengisian Turnitin)	Ace Sempu	
7.	Selasa, 11 Februari 2025	Bab 1, II, dan III (Perbaikan setelah seminar proposal)	Ace Penelitian	

No	Tanggal Bimbingan	Materi Bimbingan	Keterangan	paraf
8.	Selasa, 10 Juni 2025	Bab IV dan Bab V (Hasil Penelitian, Pembahasan, Simpulan dan Saran)	Revisi	
9.	Rabu, 18 Juni 2025	Bab IV & Abstrak (Pembahasan & Abstrak)	Revisi	
10.	Selasa, 24 Juni 2025	Bab I - V (Pengecekan Turnitin)	Acc Semhas	
11.	Kamis, 26 Juni 2025	Revisian Setelah Semhas (Abstrak, Bab 3, Bab 4, Lampiran, Jurnal)	Revisi	
12.	Senin, 30 Juni 2025	Bab I - V (Pengecekan Turnitin)	Acc Cetak	

Catatan : Coret yang tidak perlu*

Ketua Prodi TLM Program Sarjana Terapan



Nurminha, M.Sc
NIP. 199911241989122001

KARTU BIMBINGAN SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIK PROGRAM SARJANA TERAPAN
TAHUN AKADEMIK 2023-2024

Nama Mahasiswa : Hanny Lestari
 NIM : 2113353009
 Judul Skripsi : Pengaruh Waktu Penyimpanan Plasma Pada Pasien Pasien Hepatitis B Terhadap Kuantitas HBV DNA Menggunakan Metode Real-Time PCR
 Pembimbing Utama : Dr. dr. Hidayat, Sp. PK., Subsp. PI. (K), M.Kes

No	Tanggal Bimbingan	Materi Bimbingan	Keterangan	Paraf
1.	Senin 06 Januari 2025	Bab I, II, dan III (Latar Belakang, Rumusan, Tujuan, Tinjauan Teori)	Revisi	HL
2.	Kamis, 09 Januari 2025	Bab I, II, dan III (Kerangka Teori, Jenis dan Desain Penelitian)	Revisi	HL
3.	Senin, 13 Januari 2025	Bab II dan III (Tinjauan pustaka ditambahkan struktur Genomic HBV DNA, subyek penelitian)	Revisi	HL
4.	Rabu, 15 Januari 2025	Bab II dan III (Subyek Penelitian, Kerangka Teori)	Revisi	HL
5.	Sabtu, 18 Januari 2025	Bab III (Subyek Penelitian, Lokasi Penelitian)	Revisi	HL
6.	Selasa 21 Januari 2025	Bab I, II, dan III (Pengecekan Turnitin)	Ace sidang proposal	HL
7.	Jumat, 14 Februari 2025	Revisi Seminar Proposal (Bab I, II, dan III)	Ace penelitian	HL

No	Tanggal Bimbingan	Materi Bimbingan	Keterangan	paraf
8.	Selasa, 17 Juni 2025	Bab <u>IV</u> (Hasil Penelitian, Analisis Data) => Tambah Uji T-Test	Revisi	
9.	Jumat, 20 Juni 2025	Bab <u>IV</u> & <u>V</u> (Hasil Penelitian, Pembahasan)	Revisi	
10.	Senin, 23 Juni 2025	Bab <u>IV</u> & <u>V</u> (Pembahasan & Kesimpulan)	Revisi	
11.	Selasa, 24 Juni 2025	Bab I - <u>V</u> (Pengantar Tesis)	Ace Sidang Hasil	
12.	Senin, 30 Juni 2025	Ace hard cover.	Ace	

Catatan : Coret yang tidak perlu*

Ketua Prodi TLM Program Sarjana Terapan



Nurminha, M.Sc
NIP. 196911241989122001

Turnitin

SKRIPSI (BAB 1-5).pdf			
ORIGINALITY REPORT			
20%	18%	8%	5%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS
PRIMARY SOURCES			
1	repository.poltekkes-tjk.ac.id Internet Source	4%	
2	idoc.pub Internet Source	2%	
3	pt.scribd.com Internet Source	2%	
4	repository.ipb.ac.id Internet Source	1%	
5	Submitted to Universitas Jenderal Soedirman Student Paper	1%	
6	Submitted to Badan PPSDM Kesehatan Kementerian Kesehatan Student Paper	1%	
7	123dok.com Internet Source	<1%	
8	Dinda Helsa Auliantika, Didik Wahyudi. "Deteksi Gen SLC30A8 pada Sampel Darah Penderita Diabetes Melitus Tipe 2 Dengan Metode Polymerase Chain Reaction", BIOPENDIX: Jurnal Biologi, Pendidikan dan Terapan, 2023 Publication	<1%	
9	repository.ub.ac.id Internet Source	<1%	

10	docplayer.info Internet Source	<1 %
11	media.neliti.com Internet Source	<1 %
12	eprints.uns.ac.id Internet Source	<1 %
13	Fusvita Merdekawati, Betty Nurhayati. "DESAIN PRIMER GEN PENGKODE RNA DEPENDENT RNA POLIMERASE (RdRp) UNTUK DETEKSI SARS COV2 DENGAN MENGUNAKAN REAL TIME POLYMERASE CHAIN REACTION", JURNAL RISET KESEHATAN POLTEKKES DEPKES BANDUNG, 2023 Publication	<1 %
14	mabrightsmile.blogspot.com Internet Source	<1 %
15	id.scribd.com Internet Source	<1 %
16	jurnal.poltekkespalembang.ac.id Internet Source	<1 %
17	Yenny Safitri, Dewi Sulastri Juwita, Murlianis Murlianis, Alda Depi Arie. "PENGARUH TERAPI NATURE SOUNDS TERHADAP KUALITAS TIDUR Tn. N DENGAN NON STEMI DI RSUD ARIFIN ACHMAD PEKANBARU", SEHAT : Jurnal Kesehatan Terpadu, 2024 Publication	<1 %
18	digilib.uinsby.ac.id Internet Source	<1 %
19	eprints.poltekkesjogja.ac.id Internet Source	<1 %

20	adoc.pub Internet Source	<1 %
21	R. Sumbayak, E. Kurnianto, S. Kismiati. "Pengaruh Umur Induk dan Lama Penyimpanan Telur terhadap Bobot Telur, Daya Tetas dan Bobot Tetas Ayam Kedu Jengger Merah", Jurnal Sain Peternakan Indonesia, 2020 Publication	<1 %
22	Submitted to Universitas Pendidikan Indonesia Student Paper	<1 %
23	repository.uwn.ac.id Internet Source	<1 %
24	jurnal.yudharta.ac.id Internet Source	<1 %
25	mahardhikaputra31.blogspot.com Internet Source	<1 %
26	Submitted to UIN Sunan Gunung Djati Bandung Student Paper	<1 %
27	Submitted to UM Surabaya Student Paper	<1 %
28	journal.uad.ac.id Internet Source	<1 %
29	journal.universitaspahlawan.ac.id Internet Source	<1 %
30	pdfcookie.com Internet Source	<1 %
31	bascommetro.wordpress.com Internet Source	

		<1 %
32	ecampus.poltekkes-medan.ac.id Internet Source	<1 %
33	repository.poltekkesbengkulu.ac.id Internet Source	<1 %
34	repository.trisakti.ac.id Internet Source	<1 %
35	Submitted to Universitas Sebelas Maret Student Paper	<1 %
36	e-journal.uajy.ac.id Internet Source	<1 %
37	pdffox.com Internet Source	<1 %
38	repository.uinjkt.ac.id Internet Source	<1 %
39	repository.umkla.ac.id Internet Source	<1 %
40	repository.unaja.ac.id Internet Source	<1 %
41	text-id.123dok.com Internet Source	<1 %
42	www.scribd.com Internet Source	<1 %
43	batam.tribunnews.com Internet Source	<1 %
44	digilib.uin-suka.ac.id Internet Source	<1 %
	ibs.co.id	

45	Internet Source	<1 %
46	journal.fkpt.org Internet Source	<1 %
47	mariastevaniee.blogspot.com Internet Source	<1 %
48	repositori.uin-alauddin.ac.id Internet Source	<1 %
49	repository.unika.ac.id Internet Source	<1 %
50	www.coursehero.com Internet Source	<1 %
51	archive.org Internet Source	<1 %
52	eprints.binadarma.ac.id Internet Source	<1 %
53	etheses.uin-malang.ac.id Internet Source	<1 %
54	penerbitgoodwood.com Internet Source	<1 %
55	pubmed.ncbi.nlm.nih.gov Internet Source	<1 %
56	repository.uhamka.ac.id Internet Source	<1 %
57	repository.umsu.ac.id Internet Source	<1 %
58	repository.usd.ac.id Internet Source	<1 %

www.slideshare.net

Pengaruh Lama Waktu Penyimpanan Plasma Pada Pasien Positif Hepatitis B Terhadap Kuantitas HBV DNA Menggunakan *Real-Time* PCR

Hanny Lestari¹, Nurminha², Hidayat³

¹ Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Tanjungkarang

Abstrak

Hepatitis B merupakan infeksi virus yang masih menjadi masalah kesehatan global. Deteksi HBV DNA secara molekuler dapat dilakukan dengan pemeriksaan HBV DNA menggunakan Real-Time PCR yang memiliki sensitivitas tinggi. Keberhasilan pemeriksaan dipengaruhi oleh kualitas sampel, salah satunya lama waktu penyimpanan plasma sebelum dilakukannya analisis. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh lama waktu penyimpanan plasma pada pasien positif hepatitis B terhadap kuantitas HBV DNA. Desain penelitian adalah quasi-eksperimen. Lokasi dan waktu penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Tanjungkarang pada bulan Mei-Juni 2025. Sampel berupa plasma pasien positif hepatitis B disimpan selama 0, 1, 3, dan 7 hari. Analisis data yang digunakan adalah uji Regression Linier. Hasil menunjukkan adanya penurunan kadar HBV DNA seiring bertambahnya waktu penyimpanan dengan penurunan terbesar pada hari ke-7 yaitu 81,35%. Namun, hasil uji statistik menunjukkan tidak terdapat pengaruh yang signifikan antara lama waktu penyimpanan dengan kuantitas HBV DNA ($p = 0,073$). Simpulan dari penelitian ini adalah bahwa lama waktu penyimpanan plasma hingga 7 hari pada suhu -20°C tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap kuantitas HBV DNA. Saran dari penelitian ini selanjutnya menggunakan jumlah sampel yang lebih besar dan mempertimbangkan variasi waktu serta suhu penyimpanan lainnya untuk mendapatkan hasil yang lebih representatif.

Kata Kunci : Plasma, Waktu Penyimpanan, Kuantitas HBV DNA

The Effect of Plasma Storage Time in Hepatitis B Positive Patients on the Quantity of HBV DNA Using the Real-Time PCR Method

Abstract

Hepatitis B is a viral infection that remains a significant global health concern. Molecular detection of HBV DNA can be performed using Real-Time PCR, which offers high sensitivity. The accuracy of this examination is influenced by sample quality, including the duration of plasma storage prior to analysis. This study aimed to investigate the effect of plasma storage duration in patients with confirmed hepatitis B infection on the quantity of HBV DNA. A quasi-experimental design was employed. The research was conducted at the Molecular Biology Laboratory, Department of Medical Laboratory Technology, Poltekkes Tanjungkarang, during May–June 2025. Plasma samples from hepatitis B-positive patients were stored for 0, 1, 3, and 7 days. Data analysis was performed using linear regression tests. The results demonstrated a decrease in HBV DNA levels with increasing storage duration, with the most substantial decline observed on day 7 (81.35%). However, statistical analysis showed no significant effect of storage duration on HBV DNA quantity ($p = 0.073$). In conclusion, plasma storage for up to 7 days at -20°C did not have a significant impact on the quantity of HBV DNA. It is recommended that future studies include a larger sample size and consider variations in storage duration and temperature to obtain more representative findings.

Keywords : Plasma, Storage Duration, HBV DNA Quantity

Korespondensi: Hanny Lestari, Prodi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Tanjungkarang, Jalan Soekarno-Hatta No. 1 Hajimena Bandar Lampung, *mobile* 082280119515, *e-mail* hannylestari2002@gmail.com

Pendahuluan

Penyakit infeksi virus hepatitis B saat ini tetap menjadi masalah kesehatan bagi masyarakat. Virus hepatitis B (HBV) menjadi penyebab utama pada hepatitis kronis, sirosis, maupun kanker hati di dunia. Berdasarkan laporan *World Health Organization* (2024), diperkirakan terdapat sekitar 254 juta individu yang mengalami infeksi hepatitis B kronis pada tahun 2022, dengan estimasi 1,2 juta kasus baru per tahun dan angka kematian mencapai 1,1 juta jiwa yang sebagian besar disebabkan oleh komplikasi penyakit hati.

Peningkatan prevalensi infeksi HBV juga terjadi pada periode 2022–2023, di mana jumlah individu yang terdiagnosis hepatitis B secara global meningkat dari 62,4 juta menjadi 63,3 juta jiwa (CDA Foundation, 2023). Kondisi serupa terjadi di Indonesia, dengan estimasi jumlah kasus mencapai 555.593 pada tahun 2022 dan meningkat menjadi 574.296 kasus pada tahun 2023. Angka kematian tahunan akibat hepatitis B di Indonesia pada periode yang sama tercatat lebih dari 60.000 jiwa (CDA Foundation, 2023). Data Riset Kesehatan Dasar tahun 2018 menunjukkan bahwa prevalensi hepatitis B di Indonesia telah mencapai lebih dari satu juta kasus, di mana Provinsi Lampung mencatat 31.462 kasus, termasuk 3.878 kasus yang berasal dari Kota Bandar Lampung (Risikesdas Nasional & Provinsi, 2018).

Diagnosis hepatitis B dapat dilakukan melalui tes serologis, biokimia, dan molekuler (Abbas dkk., 2022). Pendekatan molekuler menjadi gold standard dalam mendeteksi HBV DNA pada serum atau plasma menggunakan PCR dengan metode amplifikasi asam nukleat (Hanjoyo dkk., 2021). PCR berfungsi mengamplifikasi urutan DNA tertentu menjadi ribuan hingga jutaan kopi secara *in vitro* (Joshi & Deshpande, 2011). Teknik ini sangat sensitif dan mampu mendeteksi DNA spesifik meskipun jumlah sampelnya sedikit (Aminah dkk., 2019).

DNA mengandung materi genetik yang mengatur aktivitas biologis makhluk hidup. Isolasi DNA bertujuan memisahkan DNA dari komponen lainnya meliputi lemak, protein, dan karbohidrat untuk memperoleh DNA murni yang akan dianalisis dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Keberhasilan pemeriksaan HBV DNA menggunakan PCR sangat dipengaruhi oleh jumlah dan kemurnian DNA dalam sampel (Lio dkk., 2021).

Menurut petunjuk *Standard Operating Procedure* (SOP) pemeriksaan HBV, spesimen plasma atau serum dapat disimpan pada suhu 15–

30°C selama 24 jam atau 2–8°C hingga 7 hari sebelum pemeriksaan. Namun, penyimpanan pada suhu -80°C sampai -20°C dianggap paling ideal karena dapat mempertahankan kualitas spesimen hingga 6 minggu (Kementerian Kesehatan RI, 2022).

Salah satu faktor yang mempengaruhi kuantitas HBV DNA adalah waktu dan suhu penyimpanan. Jika pemeriksaan sampel tertunda, sampel harus disimpan dengan kondisi yang sesuai agar komponen di dalamnya tetap stabil. Lamanya penyimpanan dapat merusak sel darah serta menurunkan kadar dan kemurnian DNA akibat proses degradasi, baik secara alami maupun oleh mikroorganisme (Lio dkk., 2021). Oleh karena itu, sangat penting untuk diperhatikan saat penyimpanan sampel agar hasil pemeriksaan tidak terpengaruh.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Huang *et al.*, (2017), penyimpanan sampel pada suhu 24°C lebih dari 3 hari menyebabkan penurunan signifikan terhadap konsentrasi DNA. Penyimpanan darah utuh hingga 15 hari juga dapat memicu lisisnya sel darah putih sehingga jumlah DNA menurun drastis. Durasi penyimpanan yang lama juga mengubah status metilasi DNA secara lokal dan global. (Huang *et al.*, 2017). Sementara itu, penelitian yang dilakukan Handayani (2024), penyimpanan sampel *whole blood* donor yang disimpan selama 1, 3, dan 7 hari pada suhu 2–8°C menyebabkan penurunan kuantitas HBV DNA. Kadar HBV DNA hari ke-1 sebesar 551.823 IU/mL menurun menjadi 213.367 IU/mL pada hari ke-3 dengan penurunan 61% dan 131.680 IU/mL pada hari ke-7 dengan penurunan 76% (Handayani, 2024).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perbedaan atau pembaharuan yang akan dilakukan pada penelitian ini adalah menggunakan sampel berupa plasma pada pasien positif hepatitis B dengan variasi waktu penyimpanan selama 0, 1, 3, dan 7 hari yang disimpan di *freezer* dengan suhu -20°C menggunakan metode *Real-Time* PCR. Peneliti tertarik untuk melakukan penelitian terkait pengaruh lama waktu penyimpanan plasma pada pasien positif hepatitis B terhadap kuantitas HBV DNA menggunakan metode *Real-Time* PCR.

Metode

Jenis penelitian ini bersifat eksperimen menggunakan desain penelitian quasi eksperimen. Lokasi pengambilan sampel dilakukan di Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. H. Abdoel Moeloek Provinsi Lampung dan analisa pemeriksaan dilakukan di

Laboratorium Biologi Molekuler Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Tanjungkarang pada bulan Mei-Juni tahun 2025. Sampel pada penelitian ini menggunakan sampel hasil pemeriksaan positif hepatitis B yang diperoleh dari Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. H. Abdoel Moeloek Provinsi Lampung. Kriteria sampel penelitian ini yaitu berupa plasma pasien yang dinyatakan positif hepatitis B (HBV).

Dalam penelitian ini, sampel plasma pasien positif hepatitis B yang sebelum disimpan (0 hari) akan diperiksa terlebih dahulu sebanyak 3 kali untuk dijadikan sebagai kontrol. Sementara itu, sampel plasma pasien positif hepatitis B yang telah disimpan pada hari ke-1 (24 jam), hari ke-3 (72 jam), dan pada hari ke-7 (168 jam) di suhu -20°C akan diperiksa dengan pengulangan sebanyak 3 kali menggunakan *Real-Time* PCR. Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis univariat untuk melihat distribusi frekuensi dari setiap variabel penelitian dan analisa bivariat dengan uji *Regression Linier* untuk mengetahui sejauh mana lama waktu penyimpanan plasma dapat mempengaruhi kuantitas HBV DNA. Namun sebelum melakukan uji *Regression Linier* dilakukan uji asumsi klasik terlebih dahulu yaitu uji normalitas, uji linieritas, dan uji heteroskedastisitas.

Hasil

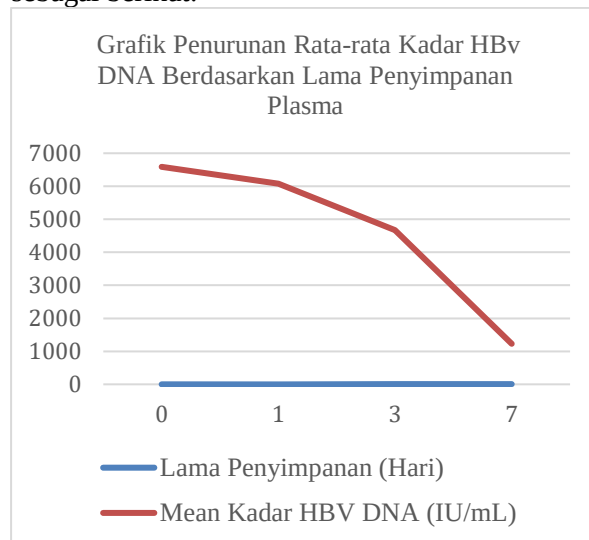
Pada penelitian ini digunakan sampel berupa plasma dari pasien yang terkonfirmasi positif hepatitis B menggunakan metode ICT (Imunokromatografi). Plasma disimpan selama 0, 1, 3, dan 7 hari. Sebelum penyimpanan, plasma dipisahkan terlebih dahulu dari *whole blood* menggunakan proses sentrifugasi. Sebagai kelompok kontrol, sampel plasma yang belum disimpan (0 hari) akan langsung diperiksa menggunakan metode *Real-Time* PCR, dengan pengulangan sebanyak 3 kali. Sisa sampel plasma lainnya disimpan di dalam *freezer* bersuhu -20°C untuk diuji kembali pada kelompok sampel penyimpanan hari ke-1, 3, dan 7 dengan perlakuan yang sama. Adapun hasil penelitian tercantum sebagai berikut:

Tabel 1. Distribusi Frekuensi Kuantitas HBV DNA (Nilai Cn) Berdasarkan Lama Waktu Penyimpanan Plasma pada hari ke-0, 1, 3, dan 7

Lama Waktu Penyimpanan	Rata-rata (IU/mL)	Penurunan (%)
0 hari (Kontrol)	6588,77	0,00%
1 hari	6077,85	7,75%
3 hari	4671,42	29,10%
7 hari	1228,24	81,35%

Hasil analisis univariat didapatkan bahwa rata-rata kadar HBV DNA tertinggi diperoleh pada hari ke-1 sebesar 6077,85 IU/mL dan rata-rata kadar terendah diperoleh pada hari ke-7 sebesar 1228,24 IU/mL. Presentase penurunan kadar HBV DNA terendah terjadi pada penyimpanan hari ke-1 yaitu 7,75% dan presentase penurunan tertinggi terjadi pada penyimpanan hari ke-7 yaitu 81,35%.

Adapun grafik penurunan antara kadar HBV DNA (nilai Cn) dengan lama waktu penyimpanan plasma tercantum pada gambar 1 sebagai berikut:



Gambar 1. Grafik Penurunan Rata-rata Kadar HBV DNA berdasarkan Lama Penyimpanan Plasma

Sebelum dilakukan uji bivariat, maka dilakukan uji normalitas residual, uji linieritas, dan uji heteroskedastisitas terlebih dahulu untuk memenuhi asumsi klasik dari *Regression Linier*. Data yang diperoleh pada penelitian ini berjumlah 12, sehingga uji normalitas menggunakan uji *One-Sample Shapiro-Wilk Test* dengan melihat *p-value*. Hasil uji normalitas data disajikan dalam tabel 2 sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil Uji Normalitas Residual antara Lama Waktu Penyimpanan terhadap Kuantitas HBV DNA

<i>Shapiro-Wilk</i>	<i>Sig. (p-value)</i>
<i>Unstandardized Residual</i>	
Lama Waktu Penyimpanan terhadap Kuantitas HBV DNA	0,132

Hasil uji normalitas *One-Sample Shapiro-Wilk Test* menunjukkan bahwa nilai signifikansi residual sebesar 0,132 ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa residual berdistribusi normal, sehingga asumsi normalitas pada analisis regresi antara lama waktu penyimpanan terhadap kuantitas HBV DNA telah terpenuhi. Tahap analisis selanjutnya dilakukan menggunakan uji Linieritas.

Sebelum dilakukan uji *Regression Linier*, terlebih dahulu dilakukan uji linieritas untuk mengetahui apakah hubungan antara variabel independen (lama waktu penyimpanan) dengan variabel dependen (kuantitas HBV DNA) bersifat linier. Hasil uji linieritas disajikan dalam tabel 3 sebagai berikut:

Tabel 3. Hasil Uji Linieritas antara Lama Waktu Penyimpanan terhadap Kuantitas HBV DNA

Lama Waktu Penyimpanan terhadap Kuantitas HBV DNA	Sig. (p-value)
Linearity	0,102
Deviation from Linearity	0,787

Berdasarkan hasil uji linearitas pada tabel di atas, diperoleh nilai signifikansi untuk *Linearity* sebesar 0,102 ($p > 0,05$) dan nilai *Deviation from Linearity* sebesar 0,787 ($p > 0,05$). Hal ini menandakan bahwa hubungan antara variabel independen (lama waktu penyimpanan) dengan variabel dependen (kuantitas HBV DNA) bersifat linier yaitu tidak ada penyimpangan dari linearitas.

Tahap selanjutnya dilakukan uji heteroskedastisitas dengan metode Glejser untuk menguji apakah residual memiliki pola tertentu terhadap variabel independen (lama waktu penyimpanan). Hasil uji heteroskedastisitas disajikan dalam tabel 4 sebagai berikut:

Tabel 4. Hasil Uji Heteroskedastisitas Metode Glejser

Variabel	Sig. (p-value)
(Constant)	0,010
Lama Waktu Penyimpanan	0,113

Berdasarkan hasil pengujian, diperoleh nilai signifikansi untuk variabel lama waktu penyimpanan sebesar 0,113 ($p > 0,05$) yang menandakan bahwa data tidak mengalami gejala heteroskedastisitas. Hal ini menunjukkan bahwa pengaruh lama waktu penyimpanan terhadap nilai residual tidak signifikan secara statistik, sehingga asumsi heteroskedastisitas terpenuhi dan dapat dilanjutkan ke uji *Regression Linier*.

Sebelum analisis *Regression Linier* dilakukan, telah dipastikan bahwa data memenuhi asumsi-asumsi dasar regresi yaitu normalitas, linearitas, dan heteroskedastisitas. Uji *Regression Linier* dilakukan untuk mengetahui pengaruh lama waktu penyimpanan plasma terhadap kuantitas HBV DNA. Hasil uji *Regression Linier* dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 5. Hasil uji *Regression Linier* Lama Waktu Penyimpanan Plasma pada hari ke-0, 1, 3, dan 7 terhadap Kuantitas HBV DNA (Nilai Cn)

Variabel	Sig. (p-value)
- Lama Waktu Penyimpanan Plasma hari ke-0, 1, 3, dan 7	0,073
- Kuantitas HBV DNA (Nilai Cn)	

Hasil uji *Regression Linier* menunjukkan bahwa nilai signifikansi sebesar 0,073 ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa secara statistik, tidak terdapat pengaruh yang signifikan antara lama waktu penyimpanan plasma terhadap kuantitas HBV DNA.

Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa terjadi penurunan kadar HBV DNA secara bertahap seiring bertambahnya lama waktu penyimpanan plasma. Hal ini dapat dilihat dari rata-rata kadar HBV DNA pada variasi waktu simpan pada tabel 1. Rata-rata kuantitas HBV DNA (nilai Cn) tertinggi terjadi pada hari ke-1 sedangkan rata-rata kuantitas HBV DNA (nilai Cn) terendah terjadi pada hari ke-7. Penurunan kadar HBV DNA ini sejalan dengan temuan Huang *et al.* (2017), yang menyatakan bahwa penyimpanan darah utuh pada suhu 24°C selama lebih dari tiga hari menyebabkan penurunan signifikan dalam konsentrasi DNA akibat degradasi dan aktivitas enzimatis residu. Meski dalam penelitian ini penyimpanan dilakukan pada suhu -20°C penurunan tetap terjadi yang mengindikasikan bahwa suhu -20°C tidak sepenuhnya menghentikan proses degradasi DNA, melainkan hanya memperlambat proses degradasi DNA.

Selain itu, Lio dkk. (2021) turut menyatakan bahwa kualitas dan kuantitas DNA yang diekstraksi dari serum/plasma akan menurun seiring bertambahnya waktu penyimpanan, bahkan pada suhu rendah akibat terjadinya lisis sel darah putih. Namun, penyimpanan selama 24 jam (1 hari) menunjukkan tingkat presentase penurunan lebih rendah dibandingkan dengan waktu penyimpanan lainnya, yakni hanya 7,75%. Hal ini diperkuat dengan buku pedoman dari Kementerian Kesehatan RI (2022), yang menyatakan bahwa penyimpanan sampel plasma/serum untuk pemeriksaan molekuler masih dapat dilakukan dalam jangka waktu 24 jam (1 hari) dengan suhu 15-30°C atau hingga 7 hari pada suhu 2-8°C dengan catatan bahwa pengujian harus segera dilakukan untuk meminimalkan degradasi. Penurunan yang relatif rendah pada hari ke-1

dapat dikaitkan dengan masih terjaganya integritas DNA sebelum degradasi lebih lanjut terjadi. Hal ini juga sejalan dengan studi yang dilakukan oleh Handayani, (2024) yang menunjukkan bahwa kuantitas HBV DNA tertinggi juga ditemukan pada penyimpanan hari ke-1 dan mengalami penurunan signifikan pada hari ke-3 dan hari ke-7.

Lama waktu penyimpanan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi stabilitas materi genetik dalam sampel. Enzim-enzim endogen dalam sampel seperti DNase dapat mengakibatkan degradasi DNA melalui proses pemecahan sehingga menyebabkan penurunan jumlah DNA yang terdeteksi. Oleh karena itu, penting untuk memperhatikan setiap tahapan mulai dari pengambilan sampel, suhu, dan durasi penyimpanan hingga proses isolasi DNA. Proses isolasi bertujuan untuk memperoleh DNA murni yang bebas dari kontaminan seperti protein atau senyawa pengganggu lainnya. Menurut Lio dkk. (2021), keberhasilan memperoleh DNA yang berkualitas sangat dipengaruhi oleh kualitas dari tahapan tersebut. Jika tidak dilakukan dengan baik, maka kualitas dan kuantitas DNA yang dihasilkan akan menurun sehingga berdampak pada validitas hasil analisis molekuler secara keseluruhan.

Proses degradasi DNA virus hepatitis B (HBV) terjadi akibat kerusakan atau pemecahan DNA, baik secara alami selama siklus hidup virus oleh mikroorganisme maupun karena intervensi terapeutik. Ketika virus bereplikasi dalam hepatosit (sel hati), sebagian DNA dapat terdegradasi secara alami selama siklus hidupnya. Saat virus menginfeksi sel baru, sebagian DNA virus dapat mengalami kerusakan atau pemecahan (Sari & Andayani, 2019). Intervensi terapeutik juga dapat mempengaruhi degradasi DNA dengan adanya penggunaan antivirus maka virus tidak dapat menyelesaikan siklus replikasinya dengan baik sehingga dapat menghambat replikasi DNA dan mempercepat proses degradasi (Lio dkk. 2021).

Keberhasilan dalam analisis molekuler seperti pemeriksaan HBV DNA, sangat dipengaruhi oleh jumlah (kuantitas) dan tingkat kemurnian DNA yang diperoleh dari sampel. Kedua faktor tersebut berperan penting dalam memastikan sensitivitas dan akurasi deteksi saat menggunakan metode *Real-Time* PCR (Pharmawati, 2014). Metode ini memiliki kemampuan untuk mendeteksi *viral load* atau jumlah DNA virus hepatitis B (HBV) dalam rentang yang luas dan dinamis, bahkan mampu mendeteksi hingga minimal $8 \log^{10}$ salinan template DNA. Hal ini menunjukkan sensitivitas

tinggi dari metode *Real-Time* PCR dalam mengidentifikasi keberadaan DNA virus dalam sampel. Kuantitas dan kualitas DNA menjadi faktor yang sangat menentukan dalam penerapan metode molekuler, karena akan mempengaruhi keberhasilan proses amplifikasi. Rendahnya jumlah DNA target dalam sampel plasma dapat disebabkan oleh durasi penyimpanan terlalu lama yang berpotensi menghambat proses amplifikasi atau bahkan menyebabkan kegagalan deteksi. Sebaliknya, jika DNA yang digunakan terlalu banyak maka kemungkinan besar akan teramplifikasi juga DNA non-target yang dapat mengganggu hasil analisis.

Meskipun terlihat adanya penurunan kuantitas HBV DNA dari hari ke-0 hingga hari ke-7, hasil uji *Regression Linier* menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,073 ($> 0,05$). Hasil ini mengindikasikan bahwa secara statistik tidak terdapat pengaruh signifikan antara lama waktu penyimpanan plasma terhadap kuantitas HBV DNA sehingga hipotesis nol (H_0) diterima. Hasil ini menunjukkan bahwa variasi lama penyimpanan plasma tidak cukup kuat secara statistik untuk mempengaruhi kuantitas HBV DNA secara signifikan meskipun terdapat pola penurunan yang jelas secara numerik. Menurut Bustin (2005), nilai ambang deteksi (*Cycle Threshold*) pada *Real-Time* PCR sangat sensitif terhadap kualitas dan kuantitas DNA template. Oleh karena itu, setiap terjadinya degradasi meskipun tidak signifikan secara statistik, tetap berpotensi mengganggu interpretasi klinis khususnya dalam evaluasi *viral load* dan monitoring terapi antivirus pada pasien positif hepatitis B.

Hasil penelitian ini menegaskan pentingnya pengelolaan waktu dan suhu dalam pre-analitik pemeriksaan molekuler. Penyimpanan plasma lebih dari tiga hari pada suhu -20°C cenderung menyebabkan penurunan terhadap kuantitas HBV DNA sehingga dapat mempengaruhi sensitivitas hasil pemeriksaan. Oleh karena itu, disarankan untuk segera memproses sampel atau menyimpannya pada suhu beku (-80°C) jika pemeriksaan tidak dapat dilakukan dalam waktu dekat (terjadi penundaan). Hal ini sesuai dengan rekomendasi WHO dan studi terdahulu Fraga *et al.* (2014) yang mengatakan bahwa stabilitas DNA lebih baik disimpan pada suhu yang lebih rendah dalam waktu yang lama.

Penelitian ini memiliki sejumlah keterbatasan yang perlu diperhatikan, terutama terkait dengan jumlah sampel yang relatif sedikit, keterbatasan suhu dan variasi waktu penyimpanan plasma serta tidak mengukur

konsentrasi DNA di awal. Keterbatasan tersebut berpotensi mempengaruhi kemampuan analisis statistik dalam mendeteksi perbedaan yang signifikan antar perlakuan. Jumlah sampel yang terbatas dapat mengurangi representatif data terhadap populasi yang lebih besar. Suhu dan variasi waktu penyimpanan yang sedikit juga dapat membatasi ruang lingkup interpretasi terhadap pengaruh lama penyimpanan plasma terhadap kuantitas HBV DNA. Selain itu, tidak mengukur konsentrasi DNA di awal juga dapat memberikan hasil yang berbeda-beda di setiap perlakuannya. Oleh karena itu, pada penelitian selanjutnya disarankan untuk melibatkan jumlah sampel yang lebih besar, menambah suhu dan rentang waktu penyimpanan yang lebih bervariasi, serta mengukur konsentrasi DNA di awal sebelum running *Real-Time* PCR.

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa rata-rata kuantitas HBV DNA (nilai Cn) tertinggi terjadi pada hari ke-1 sebesar 6077,85 IU/mL dengan presentase penurunan terendah yaitu 7,75%, sedangkan rata-rata kuantitas HBV DNA (nilai Cn) terendah terjadi pada hari ke-7 sebesar 1228,24 IU/mL dengan presentase penurunan tertinggi yaitu 81,35%. Tidak terdapat pengaruh yang signifikan antara lama waktu penyimpanan plasma pada hari ke-0, 1, 3, dan 7 terhadap kuantitas HBV DNA dengan nilai sig. (*p-value*) sebesar 0,073 ($p > 0,05$).

Saran

Disarankan pada penelitian selanjutnya menggunakan jumlah sampel yang lebih besar, menambah variasi suhu yang lebih dingin dan waktu penyimpanan lebih lama, serta mengukur konsentrasi DNA di awal sebelum running *Real-Time* PCR. Penting untuk memperhatikan waktu dan suhu penyimpanan plasma terutama saat terjadi penundaan pemeriksaan. Penyimpanan dalam waktu yang singkat (≤ 1 hari) dan pada suhu simpan yang sesuai -20°C masih dapat mempertahankan stabilitas DNA secara optimal namun tetap harus mempertimbangkan potensi degradasi secara deskriptif.

Daftar Pustaka

- Abbas, S., Rasyid, S. A., & Lio, T. M. P. (2021). Deteksi Gen Il-6 Dan Tnf-A Dengan Metode Pcr Pada Penderita Hepatitis B Di Laboratorium Klinik Maxima Kota Kendari. *Bioma : Jurnal Biologi Makassar*, 7(1), 21–28. <https://doi.org/10.20956/bioma.v7i1.18627>
- Aminah, A., Ramadini, R., & Naid, T. (2019). Analisis Cemarkan DNA Tikus pada Bakso Daging Sapi yang Beredar di Makassar dengan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 5(1), 93–100. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i1.12036>
- Bustin, S. A. (2005). Real-Time PCR. *Encyclopedia of Diagnostic Genomics and Proteomics*, 1117–1125. <https://doi.org/10.1081/E-EDGP>
- CDA Foundation, C. (2023). *Data Hepatitis B dan C di Dunia dan Indonesia*. (Global Dashboard-CDA Foundation). <https://cdafound.org/polaris/dashboard/>
- Fraga, D., Meulia, T., & Fenster, S. (2014). Real-Time PCR. In *Current Protocols in Essential Laboratory Techniques* (Vol. 2014, Issue October). <https://doi.org/10.1002/9780470089941.et1003s08>
- Handayani, F. (2024). Pengaruh Waktu Penyimpanan Sampel Whole Blood Terhadap Kuantitas HBV DNA dengan Metode Real-Time PCR. *Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang*. <https://repository.poltekkes-tjk.ac.id/id/eprint/6798/>
- Hanjoyo, M. E., Susianti, H., Iriane, V. M., & Santosa, I. P. A. (2021). Hubungan antara Kadar Serum Hepatitis B PreS1 Antigen (PreS1-Ag) dengan HBV DNA pada Pasien Hepatitis B Kronis. *Jurnal Penyakit Dalam Udayana*, 5(2), 32–36. <https://doi.org/10.36216/jpd.v5i2.173>
- Huang, L. H., Lin, P. H., Tsai, K. W., Wang, L. J., Huang, Y. H., Kuo, H. C., & Li, S. C. (2017). The Effects of Storage Temperature and Duration of Blood Samples on DNA and RNA Qualities. *PLoS ONE*, 12(9), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184692>
- Joshi, M., & Deshpande, J. D. (2011). Polymerase Chain Reaction: Methods, Principles and Application. *International Journal of Biomedical Research*, 2(1). <https://doi.org/10.7439/ijbr.v2i1.83>
- Kementerian Kesehatan RI, K. K. R. (2022). *Petunjuk Teknis Pemeriksaan Hepatitis B Dan C Menggunakan Alat Tes Cepat Molekuler (TCM)*.

- Lio, T. M. P., Sanatang, & Aldiana. (2021). Pengaruh Waktu Penyimpanan Sampel Serum Terhadap Kuantitas dan Kualitas DNA: 44 Pengamatan Selama 1 Tahun Pengaruh Waktu Penyimpanan Sampel Serum Terhadap Kuantitas dan Kualitas DNA: Pengamatan Selama 1 Tahun. *Journal of Biological Research*), 8(1), 44–51.
- Pharmawati, M. (2014). Optimalisasi Ekstraksi Dna Dan Pcr-Rapd Pada *Grevillea* Spp. (Proteaceae). *Jurnal Biologi Udayana*, 13(1), 12–16.
- Riskesdas Nasional, R. N. (2018). Laporan Riskesdas 2018 Nasional. In *Lembaga Penerbit Balitbangkes*. [https://repository.badankebijakan.kemkes.go.id/id/eprint/3514/1/Laporan Riskesdas 2018 Nasional.pdf](https://repository.badankebijakan.kemkes.go.id/id/eprint/3514/1/Laporan_Riskesdas_2018_Nasional.pdf)
- Riskesdas Provinsi, R. P. (2018). Laporan Provinsi Lampung RIKESDAS 2018. In *Badan Penelitian Daerah*. http://labdata.litbang.kemkes.go.id/images/download/laporan/RKD/2018/Laporan_Nasional_RKD2018_FINAL.pdf
- Sari, L. R., & Andayani, P. (2019). Studi Numerik Model Virus Hepatitis B dengan Pengaruh Penyembuhan dan Absorpsi. *Sainmatika: Jurnal Ilmiah Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam*, 16(1), 1. <https://doi.org/10.31851/sainmatika.v16i1.3124>
- WHO. (2024). *Hepatitis B*. World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>

59	Internet Source	<1 %
60	repository.unej.ac.id Internet Source	<1 %
61	Basuki Rachmad, Wiria Saputri, Yandi A.S, Andi Setiawan, Mulyono Mulyono. "Isolasi dan Identifikasi Gen Resisten Ciprofloxacin pada Isolat Escherichia coli MDR Ciprofloxacin dari Penderita ISK di RSUDAM Provinsi Lampung", Jurnal Kedokteran Universitas Lampung, 2017 Publication	<1 %

Exclude quotes Off
Exclude bibliography Off

Exclude matches Off