

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Hasil skrining Hepatitis B dengan metode CLIA

Hasil skrining Hepatitis B dengan Metode CLIA pemeriksaan skrining Hepatitis B menggunakan metode CLIA dilakukan terhadap 375 sampel darah donor untuk menilai status reaktivitas terhadap penanda infeksi Hepatitis B (HBsAg). Hasil pemeriksaan ditampilkan pada Tabel 8.

Tabel 8

Hasil Skrining Hepatitis B dengan Metode CLIA

Hasil Skrining Hepatitis B	Frekuensi (n)	Persentase (%)
Reaktif	9	2,4
Non reaktif	366	97,6
Total	375	100

Sebagian besar sampel (97,6%) menunjukkan hasil non reaktif. Hal ini mengindikasikan tingkat reaktivitas Hepatitis B yang rendah pada populasi donor di UTD RSUP Prof. Dr. I. G. N. G. Ngoerah.

2. Hasil skrining Hepatitis B dengan metode NAT

Hasil skrining Hepatitis B dengan Metode NAT dilakukan terhadap 375 sampel darah donor untuk mendeteksi keberadaan DNA virus Hepatitis B. Hasil pemeriksaan ditampilkan pada Tabel 9.

Tabel 9
Hasil Skrining Hepatitis B dengan Metode NAT

Hasil skrining Hepatitis B	Frekuensi (n)	Persentase (%)
Reaktif	8	2,1
Non reaktif	367	97,9
Total	375	100

Sebanyak 97,9% sampel menunjukkan hasil NAT non reaktif. Temuan ini menegaskan peran NAT sebagai metode deteksi molekuler yang sensitif dalam memastikan keamanan darah donor.

3. Tingkat kesesuaian antara metode CLIA dan NAT

Untuk mengetahui tingkat kesesuaian antara metode CLIA dan NAT dalam skrining Hepatitis B pada pendonor darah dilakukan analisis secara statistik dengan uji Kappa serta dijabarkan dalam tabel tabulasi silang. Evaluasi ini penting dilakukan untuk menilai konsistensi deteksi antara pemeriksaan berbasis antigen dan pemeriksaan berbasis DNA virus, serta untuk menentukan reliabilitas hasil skrining secara keseluruhan. Hasil analisis tabulasi silang ditampilkan pada Tabel 10.

Tabel 10

Tabulasi Silang Hasil Skrining Hepatitis B antara Metode CLIA dengan Metode NAT

		NAT (HBV)			Koefisien Kappa (κ)	Nilai signifikansi (p)
		Reaktif	Non Reaktif	Jumlah		
CLIA (HBsAg)	Reaktif	7	2	9	0,819	0,000
	Non Reaktif	1	365	366		
	Jumlah	8	367	375		

Hasil pada Tabel 10 menunjukkan bahwa terdapat tingkat kesesuaian yang sangat kuat antara metode CLIA dan NAT, sebagaimana ditunjukkan oleh nilai koefisien kappa sebesar 0,819 dengan nilai signifikansi $p = 0,000$. Selain itu pada tabel juga menunjukkan sebanyak 372 sampel memiliki hasil yang sesuai (CLIA dan NAT reaktif sebanyak 7 sampel dan non reaktif sebanyak 365 sampel). Hal ini mengindikasikan bahwa kedua metode memberikan hasil yang konsisten dan dapat saling mendukung dalam proses skrining Hepatitis B pada pendonor darah.

B. Pembahasan

1. Hasil skrining Hepatitis B dengan metode CLIA

Hasil skrining Hepatitis B menggunakan metode CLIA menunjukkan tingkat reaktivitas sebesar 2,4 % (9 sampel) dari total 375 sampel darah donor yang diperiksa (Tabel 8). Angka ini termasuk dalam kisaran prevalensi nasional infeksi Hepatitis B pada pendonor darah, yaitu sekitar 2–10 % (Suryani dan Setiawaty, 2016). Nilai tersebut menunjukkan bahwa mayoritas donor darah berada dalam kategori non-reaktif terhadap HBsAg, sehingga secara umum mencerminkan tingkat keamanan darah donor yang relatif baik.

Metode CLIA merupakan teknik imunodiagnostik yang mendeteksi keberadaan antigen melalui pembentukan kompleks antigen–antibodi yang menghasilkan emisi cahaya (*chemiluminescence*) sebagai indikator hasil (Reddy *et al.*, 2021). Teknologi ini menggabungkan prinsip imunologi dan reaksi kimia berbasis luminesensi untuk memperoleh hasil yang cepat, sensitif, dan kuantitatif, menjadikannya metode unggulan dalam skrining infeksi menular lewat transfusi

darah. Keunggulan metode CLIA meliputi sensitivitas dan spesifisitas tinggi, rentang deteksi luas, automasi penuh yang meningkatkan *throughput* dan mengurangi kesalahan manusia, waktu pemeriksaan cepat, serta objektivitas hasil karena pengukuran intensitas cahaya secara kuantitatif

Selain itu, meskipun CLIA memiliki sensitivitas tinggi, metode ini tidak dapat mendeteksi infeksi pada fase jendela (*window period*) sebelum antigen HBsAg terbentuk, serta tidak mampu mengenali infeksi okult (OBI), yaitu kondisi ketika HBsAg tidak terdeteksi, tetapi DNA HBV tetap ada dalam darah. Keterbatasan ini dapat disebabkan oleh mutasi pada gen S virus HBV, terutama di daerah α -determinant, yang mengubah struktur epitop antigen sehingga tidak dikenali oleh antibodi (Lusida, dkk., 2016). Menurut Park *et al.* (2020), varian mutasi tersebut dapat menyebabkan hasil HBsAg negatif palsu meskipun infeksi masih berlangsung.

Hasil pemeriksaan dengan rasio *signal-to-cutoff* (S/CO) mendekati ambang batas (*borderline*) juga berpotensi menghasilkan interpretasi yang keliru, baik positif palsu maupun negatif palsu (Pasaribu, dkk., 2022). Dengan demikian, meskipun hasil skrining CLIA menunjukkan tingkat reaktivitas 2,4 %, yang menandakan bahwa sekitar 97,6 % darah donor berada dalam kategori aman, namun metode ini tidak sebaiknya digunakan secara tunggal. Pemeriksaan serologis seperti CLIA perlu dilengkapi dengan metode molekuler (NAT) untuk mendeteksi infeksi pada fase jendela maupun kasus okult yang tidak terdeteksi secara serologis. World Health Organization (2022) menyebutkan bahwa “*viraemia usually occurs significantly earlier than the point at which immunochemical markers can be*

detected”, sehingga pemeriksaan serologis tidak dapat digunakan secara tunggal untuk menjamin keamanan transfusi.

2. Hasil skrining Hepatitis B dengan metode NAT

Metode NAT merupakan pendekatan molekuler yang mendeteksi langsung DNA virus Hepatitis B (HBV), sehingga mampu mengidentifikasi infeksi pada fase jendela (*window period*) sebelum antigen HBsAg terbentuk (Roth *et al.*, 2022). Dalam penelitian ini, dari 375 sampel darah donor, ditemukan 8 sampel (2,1 %) reaktif melalui NAT (Tabel 9). Hasil ini menunjukkan bahwa NAT mampu mendeteksi sejumlah kasus yang tidak teridentifikasi oleh metode serologis, sejalan dengan studi Suryani dan Setiawaty (2016) yang menemukan 0,4 % donor dengan HBsAg-negatif tetapi NAT-positif, menunjukkan adanya OBI. Studi oleh Novia, dkk., (2021) menemukan bahwa sebagian donor dengan hasil HBsAg-negatif ternyata masih memiliki bukti paparan HBV melalui uji anti-HBc positif, yang mengindikasikan infeksi laten.

Maka dari itu, direkomendasikan dilakukannya pemeriksaan HBV DNA pada skrining donor darah, dan pemeriksaan anti-HBc untuk individu yang baru pertama kali mendonorkan darahnya. Pemeriksaan harus dilaksanakan secara berulang dikarenakan sifat dari HBV DNA yang *intermittent* di dalam darah, sehingga sulit untuk dideteksi (Wang *et al.*, 2023). Temuan-temuan ini sejalan dengan laporan Anggraini dan Nurhayati (2023) yang menegaskan perlunya marker tambahan (anti-HBc dan NAT) untuk memperkuat skrining darah, khususnya di daerah endemis seperti Indonesia.

Keunggulan metode NAT termasuk kemampuan deteksi dini infeksi yang memperpendek *window period* hingga $\pm 10-30$ hari lebih awal dibanding metode

serologis (Cruz, Barile, dan Amaral, 2023), sensitivitas dan spesifisitas tinggi, serta pengurangan risiko transmisi infeksi HBV pasca-transfusi (Candotti dan Laperche, 2018). Walaupun demikian, NAT memiliki beberapa keterbatasan. Metode ini tidak mendeteksi respons imun tubuh terhadap infeksi, sehingga tidak dapat digunakan untuk menilai status kekebalan atau riwayat paparan virus (Shen, 2019). Biaya reagen dan peralatan NAT juga jauh lebih tinggi 3–5 kali lipat dibanding ELISA atau metode serologis lainnya seperti CLIA, menjadi kendala utama bagi negara berpenghasilan menengah (Candotti and Laperche, 2018). Sebagian besar UTD di Indonesia masih mengandalkan pemeriksaan serologis HBsAg sebagai metode skrining utama untuk mendeteksi infeksi Hepatitis B. Sehingga penerapan metode NAT sebagai metode pelengkap masih terbatas pada beberapa pusat besar, seperti UTD PMI DKI Jakarta, PMI Surabaya, dan PMI Denpasar (Puspita, 2021 ; Pratama, Yuliani, dan Ayu, 2022).

Keterbatasan lainnya yaitu kompleksitas teknis (ekstraksi DNA, amplifikasi, deteksi) menuntut tenaga laboratorium yang sangat terlatih, dan adanya risiko kontaminasi silang akibat *carry-over contamination* atau amplifikasi non-spesifik jika kontrol amplifikasi tidak dijalankan dapat menyebabkan hasil positif palsu. Sedangkan hasil NAT negatif palsu dapat terjadi akibat kadar DNA virus di bawah *limit of detection* (LOD) alat (Candotti and Laperche, 2018). Selain itu NAT tidak dimaksudkan sebagai pengganti pemeriksaan serologis, melainkan pelengkap (*complementary test*) untuk meningkatkan akurasi deteksi donor darah yang terinfeksi (World Health Organization, 2022). Kombinasi antara CLIA dan NAT memberikan sistem deteksi ganda yang lebih andal, terutama dalam mendeteksi kasus laten atau infeksi dini. Dengan demikian, hasil 2,1 % reaktif melalui NAT

dalam penelitian ini menegaskan peran NAT sebagai lapisan tambahan penting dalam sistem skrining donor darah di Indonesia, terutama untuk mendeteksi infeksi pada tahap awal atau laten yang tidak terdeteksi oleh CLIA.

3. Tingkat kesesuaian antara metode CLIA dan NAT

Analisis tabulasi silang menunjukkan tingkat kesesuaian yang sangat tinggi antara metode CLIA dan NAT, dengan nilai Cohen's Kappa (κ) = 0,819 dan *significance* atau $p = 0,000$ ($p < 0,05$) (Tabel 10 dan Lampiran 6). Berdasarkan interpretasi Landis dan Koch yang dikutip oleh Rahayu (2023), nilai κ antara 0,81–1,00 menunjukkan kategori “*Almost Perfect Agreement*”, artinya kesesuaian kedua metode sangat kuat dan tidak terjadi secara kebetulan. Nilai standard error sebesar 0,102 menandakan kestabilan estimasi yang baik dan kecilnya kesalahan acak. Hasil ini mengindikasikan bahwa kedua metode mampu memberikan hasil yang konsisten dan valid.

Temuan ini sejalan dengan penelitian Irshad *et al.* (2023) yang melaporkan tingkat kesesuaian tinggi antara metode CLIA dan NAT dalam skrining Hepatitis B pada donor darah. Penelitian lain oleh Cruz, Barile, and Amaral (2023), di Mesir serta penelitian oleh Shahin *et al.* (2025) menunjukkan nilai $\kappa = 0,907$ untuk deteksi Hepatitis B dengan kombinasi kedua metode tersebut memperkuat bukti bahwa CLIA dan NAT memiliki korelasi yang hampir sempurna meskipun target deteksinya berbeda. Dengan demikian, hasil penelitian ini mendukung efektivitas kombinasi CLIA dan NAT dalam meningkatkan keandalan skrining darah di UTD.

Hasil penelitian ini juga memberikan manfaat strategis bagi sistem skrining darah, antara lain: analisis kesesuaian membantu mengidentifikasi ketidaksesuaian hasil yang dapat menunjukkan fase infeksi atau keberadaan OBI. Pada hasil

penelitian terdapat ketidaksesuaian hasil antara kedua metode yaitu hanya 3 dari 375 sampel (0,8%) , menunjukkan reliabilitas yang sangat baik. Proporsi ketidaksesuaian ini lebih rendah dibandingkan laporan Cruz *et al.* (2023) sebesar 1,2%, menandakan bahwa sistem kontrol mutu di UTD RSUP Prof. Dr. I.G.N.G Ngoerah berjalan optimal. Jika dijabarkan terdapat dua sampel dengan hasil CLIA reaktif tetapi NAT non reaktif kemungkinan terkait dengan fase konvalesen atau inaktivasi virus, ketika antigen HBsAg masih terdeteksi sedangkan replikasi DNA HBV sudah berhenti (Kwon and Lee, 2020). Perbedaan hasil ini juga dapat dipengaruhi oleh faktor teknis, seperti penurunan stabilitas antigen akibat penyimpanan serum lebih dari 72 jam atau adanya PCR inhibitor yang mengganggu amplifikasi DNA (Nguyen *et al.*, 2022).

Beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa metode CLIA dapat memiliki sensitivitas sangat tinggi dalam mendeteksi antigen permukaan hepatitis B (HBsAg), bahkan dapat lebih sensitif atau melengkapi sensitivitas metode NAT pada kondisi tertentu. Shen *et al.* (2024) menyatakan bahwa metode CLIA dengan alat MAGLUMI memiliki sensitivitas diagnostik 100% dengan batas deteksi analitik serendah 0,039 IU/mL, efektif untuk berbagai subgenotipe HBV. Shahin *et al.* (2025) melaporkan bahwa CLIA mendeteksi lebih banyak sampel reaktif HBsAg dibandingkan NAT (0,77% vs 0,71%). Selain itu, CLIA dapat mendeteksi kasus HBsAg positif pada pasien dengan hasil NAT negatif, terutama pada kasus viral load sangat rendah atau adanya mutasi spesifik pada gen S yang memengaruhi deteksi DNA virus (Zhang, *et al* 2019). Kondisi inilah yang mungkin menyebabkan tingkat reaktivitas CLIA lebih tinggi daripada NAT dalam penelitian ini. Oleh karena itu, meskipun NAT unggul dalam mendeteksi infeksi dini dan kasus

laten, CLIA dapat lebih sensitif terhadap antigen permukaan dan kasus dengan viral load rendah atau mutasi tertentu. Kombinasi kedua metode tetap direkomendasikan untuk memperoleh skrining yang paling komprehensif.

Selain itu terdapat proporsi hasil CLIA non reaktif namun NAT reaktif yaitu sebanyak 1 dari 375 sampel dapat dianggap sebagai indikasi adanya OBI. Menurut Damiani *et al.* (2023), OBI terjadi ketika DNA HBV terdeteksi pada individu tanpa HBsAg yang terukur, sering kali dengan kadar DNA <200 IU/mL. Hal ini berpotensi menyebabkan *residual transfusion risk* meskipun skrining serologis menunjukkan hasil non-reaktif. Oleh karena itu, penerapan kombinasi CLIA dan NAT berperan penting dalam mendeteksi infeksi laten serta memperkuat jaminan keamanan darah donor di daerah endemis Hepatitis B seperti Indonesia. Hasil NAT reaktif pada donor darah di UTD RSUP Prof. Dr. I.G.N.G Ngoerah juga menunjukkan masih adanya transmisi aktif HBV atau prevalensi OBI di wilayah tersebut, sejalan dengan temuan Hunou, Waleleng, dan Rotty (2022) yang menunjukkan variasi pola infeksi antar wilayah di Indonesia.

Selain relevansi klinisnya, hasil kesesuaian antara metode CLIA dan NAT juga memiliki implikasi penting terhadap sistem manajemen mutu laboratorium. Analisis kedua metode ini dapat berfungsi sebagai alat evaluasi mutu analitik, di mana adanya diskrepansi hasil yang signifikan dapat menjadi indikator potensi masalah teknis, kesalahan kalibrasi, atau penurunan performa alat yang perlu dikaji ulang. Tingkat kesesuaian yang sangat kuat ($\kappa = 0,819$) pada penelitian ini mencerminkan bahwa sistem analitik laboratorium berada dalam kondisi stabil dan terkendali. Hal ini menunjukkan bahwa prosedur pemeriksaan yang diterapkan di Unit Transfusi Darah (UTD) RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah telah memenuhi

prinsip *good laboratory practice* sesuai standar ISO 15189:2022. Dari aspek kebijakan mutu dan pelayanan transfusi darah, nilai Kappa yang sangat kuat ini mendukung optimalisasi algoritma skrining donor darah dengan mengombinasikan CLIA dan NAT sebagai metode komplementer.

Pendekatan ganda tersebut terbukti meningkatkan sensitivitas deteksi dan menurunkan risiko transfusi darah terinfeksi Hepatitis B, sesuai dengan rekomendasi World Health Organization (2023) serta Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2023). Penelitian oleh Shahin *et al.* (2025) juga menunjukkan bahwa kombinasi NAT dan serologi dapat menurunkan risiko transmisi HBV hingga 1 per 500.000 donor, dibandingkan skrining serologi tunggal yang memiliki risiko sekitar 1 per 50.000 donor. Hal ini menegaskan pentingnya integrasi dua metode sebagai langkah strategis peningkatan keamanan transfusi darah nasional.

Selain itu, Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 91 Tahun 2015 juga menegaskan bahwa pemeriksaan IMLTD wajib menggunakan metode dengan sensitivitas tinggi dan hasil yang dapat diverifikasi antar-metode. Nilai Kappa yang tinggi tidak hanya menegaskan kesesuaian antar-metode, tetapi juga dapat digunakan sebagai indikator stabilitas sistem analitik dan konsistensi kinerja alat. Analisis kesesuaian antara metode CLIA dan NAT dapat dijadikan bahan audit internal untuk menilai efektivitas kalibrasi alat, ketepatan prosedur, serta akurasi interpretasi hasil oleh petugas laboratorium. Dengan demikian, hasil penelitian ini memberikan kontribusi terhadap penguatan siklus *Continuous Quality Improvement* (CQI) di laboratorium, sebagaimana diamanatkan dalam ISO 15189:2022 dan World Health Organization (2022) yang menekankan pentingnya verifikasi serta validasi berkelanjutan antar-metode pemeriksaan.

Dengan demikian, hasil penelitian ini tidak hanya menegaskan efektivitas kombinasi CLIA dan NAT dari aspek ilmiah, tetapi juga memberikan kontribusi nyata terhadap peningkatan keamanan transfusi darah dan penguatan sistem jaminan mutu laboratorium di Indonesia.