

1. Mendapatkan Hibah Penelitian Kompetitif (Sebagai Ketua)

KODE K03

DESKRIPSI : Ketua peneliti Penelitian Unggulan Fakultas, Dana Internal
Universiats Airlangga,
Judul : Deteksi infeksi Human Cytomegalovirus dengan
PCR konvensional dari spesimen urin dibandingkan
pemeriksaan serologis pada bayi penderita kolestasis

	Halaman
BUKTI : SK Rektor No 1408/UN3/2019, 22 Maret 2019, Dana Penelitian Rp 40.000.0000,-	2
Gondo Mastutik di nomer urutan 80	16
Kontrak penelitian No 2990/UN3.1.1/LT/2019	17
Laporan akhir	22



SALINAN

**KEPUTUSAN
REKTOR UNIVERSITAS AIRLANGGA
NOMOR 1408/UN3/2019**

TENTANG

**PELAKSANAAN PENELITIAN INTERNAL UNIVERSITAS AIRLANGGA
HIBAH RISET MANDAT, PENELITIAN UNGGULAN FAKULTAS DAN
PENELITIAN DOSEN PEMULA TAHUN 2019**

REKTOR UNIVERSITAS AIRLANGGA,

Menimbang : a. bahwa sesuai hasil seleksi proposal penelitian hibah riset mandat, penelitian unggulan fakultas dan penelitian dosen pemula Universitas Airlangga Tahun 2019 sebagai salah satu wujud dari pelaksanaan tridharma perguruan tinggi, maka perlu menetapkan para peneliti dan judul penelitian dimaksud;

b. bahwa berdasarkan pertimbangan sebagaimana dimaksud pada huruf a, perlu menetapkan Keputusan Rektor tentang Pelaksanaan Penelitian Internal Universitas Airlangga Hibah Riset Mandat, Penelitian Unggulan Fakultas dan Penelitian Dosen Pemula Tahun 2019;

Mengingat : 1. Undang-Undang Nomor 20 Tahun 2003 tentang Sistem Pendidikan Nasional (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2003 Nomor 78, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4301);

2. Undang-Undang Nomor 12 Tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2012 Nomor 158, Tambahan Lembaran Negara Tahun 2012 Nomor 5336);

3. Peraturan Pemerintah Nomor 57 Tahun 1954 tentang Pendirian Universitas Airlangga di Surabaya sebagaimana telah diubah dengan Peraturan Pemerintah Nomor 3 Tahun 1955 tentang Pengubahan Peraturan Pemerintah Nomor 57 Tahun 1954 (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1954 Nomor 99 Tambahan Lembaran Negara Nomor 695 juncto Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1955 Nomor 4 Tambahan Lembaran Negara Nomor 748);

4. Peraturan Pemerintah Nomor 37 Tahun 2009 tentang Dosen (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2009 Nomor 76, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 5007);
5. Peraturan Pemerintah Nomor 4 Tahun 2014 tentang Penyelenggaraan Pendidikan Tinggi dan Pengelolaan Perguruan Tinggi (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 16, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5500);
6. Peraturan Pemerintah Nomor 30 Tahun 2014 tentang Statuta Universitas Airlangga (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 100, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5535);
7. Peraturan Pemerintah Nomor 26 Tahun 2015 tentang Bentuk dan Mekanisme Pendanaan Perguruan Tinggi Negeri Badan Hukum (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2015 Nomor 110, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 5699);
8. Keputusan Majelis Wali Amanat Universitas Airlangga Nomor 1032/UN3.MWA/K/2015 tentang Pengangkatan Rektor Universitas Airlangga Periode 2015-2020;
9. Peraturan Rektor Universitas Airlangga Nomor 39 Tahun 2017 tentang Perubahan Atas Peraturan Rektor 42 Tahun 2016 tentang Organisasi dan Tata Kerja Universitas Airlangga;
10. Peraturan Rektor Universitas Airlangga Nomor 3 Tahun 2019 tentang Perubahan Kedua Atas Peraturan Rektor Nomor 27 Tahun 2018 tentang Pedoman Pendidikan Universitas Airlangga;
11. Keputusan Rektor Universitas Airlangga Nomor 1280/UN3/2015 tentang Pembentukan Lembaga Penelitian dan Inovasi;
12. Keputusan Rektor Universitas Airlangga Nomor 1285/UN3/2015 tentang Pengangkatan Ketua pada Lembaga dan Kepala Perpustakaan di Lingkungan Universitas Airlangga.

Meperhatikan : Surat Ketua lembaga penelitian dan Inovasi Universitas Airlangga Nomor 398/UN3.14/LT/2019, tanggal 21 Maret 2019, perihal Permohonan SK tentang Pelaksanaan Penelitian Internal Universitas Airlangga Tahun 2019.

MEMUTUSKAN :

- MENETAPKAN : KEPUTUSAN REKTOR TENTANG PELAKSANAAN PENELITIAN INTERNAL UNIVERSITAS AIRLANGGA HIBAH RISET MANDAT, PENELITIAN UNGGULAN FAKULTAS DAN PENELITIAN DOSEN PEMULA TAHUN 2019.**
- KESATU :** Menetapkan hasil seleksi proposal penelitian internal Universitas Airlangga hibah riset mandat, penelitian unggulan fakultas dan penelitian dosen pemula tahun 2019.
- KEDUA :** Penerima hibah riset mandat, penelitian unggulan fakultas dan penelitian dosen pemula sebagaimana dimaksud pada diktum KESATU sebanyak 41 (empat puluh satu) judul hibah riset mandat, 176 (seratus tujuh puluh enam) judul penelitian unggulan fakultas, dan 159 (seratus lima puluh sembilan) judul penelitian dosen pemula, dengan susunan nama tim peneliti sebagaimana tercantum dalam lampiran I, lampiran II dan lampiran III yang merupakan bagian tidak terpisahkan dari Keputusan Rektor ini.
- KETIGA :** Biaya untuk pelaksanaan penelitian sebagaimana dimaksud pada diktum KEDUA adalah:
1. Hibah Riset Mandat sebesar Rp. 8.870.160.466 (delapan milyar delapan ratus tujuh puluh juta seratus enam puluh ribu empat ratus enam puluh enam rupiah) dibebankan pada dana RKAT Lembaga Penelitian dan Inovasi;
 2. Penelitian Unggulan Fakultas sebesar Rp. 6.577.632.828 (enam milyar lima ratus tujuh puluh tujuh juta enam ratus tiga puluh dua ribu delapan ratus dua puluh delapan rupiah) dibebankan pada RKAT masing-masing Fakultas;
 3. Penelitian dosen pemula sebesar Rp. 3.514.828.500 (tiga milyar lima ratus empat belas juta delapan ratus dua puluh delapan ribu lima ratus rupiah) dibebankan pada RKAT masing-masing Fakultas.
- KEEMPAT :** Dalam melaksanakan tugasnya, penerima dana penelitian sebagaimana dimaksud pada diktum KEDUA, bekerja secara jujur dan transparan dengan berpedoman pada ketentuan peraturan perundang-undangan yang berlaku, serta bertanggungjawab kepada Rektor melalui Dekan pada Fakultas masing-masing.
- KELIMA :** Jangka waktu pelaksanaan penelitian sebagaimana dimaksud pada diktum KESATU terhitung mulai tanggal 1 Maret 2019 sampai dengan 31 Desember 2019.

KEENAM : Keputusan Rektor ini berlaku surut mulai tanggal 1 Maret 2019.

Salinan disampaikan Yth:
1. Pimpinan Unit Kerja di Lingkungan Unair
2. Yang bersangkutan

Ditetapkan di Surabaya
pada tanggal 22 Maret 2019

REKTOR,

ttd

MOHAMMAD NASIH
NIP.196508061992031002

Salinan sesuai dengan aslinya
Sekretaris Universitas,



KOKO SRIMULYO
NIP 196602281990021001

LAMPIRAN II KEPUTUSAN REKTOR UNIVERSITAS AIRLANGGA**NOMOR : 1408/UN3/2019, TANGGAL 21 MARET 2019****TENTANG : PELAKSANAAN PENELITIAN INTERNAL UNIVERSITAS AIRLANGGA HIBAH RISET MANDAT,
PENELITIAN UNGGULAN FAKULTAS DAN PENELITIAN DOSEN PEMULA TAHUN 2018****SKEMA PENELITIAN UNGGULAN FAKULTAS**

No	TIM PENELITI	NAMA MAHASISWA	SKEMA	Fakultas / Pusat Studi	JUDUL PENELITIAN	DANA
1	Eka Mishbahatul M.Has, S.Kep.,Ns.,M.Kep. Ferry Efendi, S.Kep.,Ns.,M.Sc., Ph.D Slyvia Dwi W, S.Kep.,Ns.,M.Kep Setho Hadisuyatmana S.Kep.,Ns.,M.Ns (CommHlth & PC)	Ika Zulkafika Mahmudah	PUF	F.Kep	Determinan stunting pada usia 6-24 bulan di Indonesia (Analisis data IFLS-5 tahun 2014/2015)	Rp 20.000.000
2	Dr. Rizki Fitriyasaki PK, S.Kep.,Ns.,M.Kep Dr. Ah. Yusuf, S.Kp.,M.Kes Rr. Dian Tristiana, S.Kep.,Ns.,M.Kep	Winda Kusumawardani S.Kep.,Ns.	PUF	F.Kep	Pengembangan instrumen clinical pathway pada kasus skizofrenia berdasarkan SDKI di Rumah Sakit Jiwa Menur Surabaya	Rp 25.000.000
3	Dr. Yuni Sufyanti Arief, S,Kp.,M.Kes. Ilya Krisnana, S.Kep.,Ns.,M.Kep Praba Diyan Rahmawati, S.Kep.,Ns.,M.Kep. Iqlima Dwi Kurnia, S.Kep.,Ns.,M.Kep	Hasanuddin, Amd.Kep	PUF	F.Kep	Health coaching dalam meningkatkan self-efficacy keluarga dalam melaksanakan pencegahan gizi buruk pada balita	Rp 35.000.000
4	Endah Mastuti, S.Psi., M.Si., Dr. Seger Handoyo, Psikolog	Fita Fauziah Rahmah (111211132006)	PUF	F.Psi.	Prediktor Demografi Terhadap Test Anxiety Siswa dalam Menghadapi Computer Based Test (CBT)	Rp 40.000.000
5	Dr. Achmad Chusairi, S.Psi., MA, Ilham Nur Alfian, M.Psi., Psikolog	Ardiana Meilinawati (111611133038) Linda Fatmawati (111711133032)	PUF	F.Psi.	Memahami Remaja Dalam Mengembangkan Kemampuan Diri	Rp 40.000.000
6	Atika Dian Ariana, S.Psi., M.Sc., Tri Kurniati Ambarini, M.Psi., Psikolog	Edwin Elmando Purnomo (111311133189) Naufal Al-Farizy (111611133132) Sita Nadia Salsabila Widodo (111611133142) Kavindhi Pradana Firmansyah (111611133178) Edelweiss Stefany Tomahawk (111711133066)	PUF	F.Psi.	Factors Affecting Help- Seeking Behaviors in Community Health Service of People with Common Mental Health Problems	Rp 30.000.000

No	TIM PENELITI	NAMA MAHASISWA	SKEMA	Fakultas / Pusat Studi	JUDUL PENELITIAN	DANA
7	Endang R. Soerjaningrum M.AppPsych, PhD, Dr. Achmad Chusairi, S.Psi., MA, Atika Dian Ariana, S.Psi., M.Sc.	Afifah Iftah Nurul (111611133102) Putri Indah Permatasari (111611133113)	PUF	F.Psi.	Uji Coba Penggunaan Alat Deteksi Depresi Ibu Oleh Kader Posyandu sebagai Dasar Implementasi Kebijakan Layanan Antenatal yang Integratif di Indonesia.	Rp 30.000.000
8	Margaretha, S.Psi., P.G.Dip.Psych., G.Cert.Ed.M.Sc., Dr. Duta Nurdibyanandaru, MS., Psikolog	Aisya Kusuma Cahya Mahardika (111511133052) Anindya Endah Cahyaningrum (111511133077) Aprillia Wigar Kantiningtyas (111511133146)	PUF	F.Psi.	Adaptasi Alat Ukur Aktuarial Static-99 Dan Pemetaan Aspek Rehabilitatif Pelaku Kejahatan Seksual Di Indonesia	Rp 30.000.000
9	Dr. Ni Made Sukartini, SE.,M.Si., MIDEC. Dr. Achmad Solihin, SE., M.Si. M. Khoerul Mubin, SE., M.Sc.	Diyan Setiyo Aji (041411133014) Nikmatul Chasanah (041511133082)	PUF	FEB	Kaitan Antara Bencana Alam, Social Capital Dan Time Preference Kajian di Indonesia	Rp 40.000.000
10	Dr. Masmira Kurniawati, SE., M.Si. Prof. Dr. Tanti Handriana, SE., M.Si.	Cahya Threesnaningtyas (041611233094)	PUF	FEB	Social Cognitive Theory Sebagai Prediktor Perilaku Sehat Konsumen	Rp 35.000.000
11	Dr. Wasiaturrahma, SE.,M.Si. Shochrul Rohmatul Ajija, SE.,M.Ec. M. Khoerul Mubin, SE.,M.Sc. Angga Erlando, SE.,M.Ec.Dev.	Ika Maulidatin 041611133099	PUF	FEB	Kebijakan Makroprudensial dan Pengendalian Kredit	Rp 40.000.000
12	Dr. Hamidah, Dra.,M.Si.,Ak. Dr. Zahroh Naimah, SE.,M.Si.,Ak.	Riza Perdana 041824253029	PUF	FEB	Adopsi International Financial Reporting Standards dalam Perspektif Ekologi Bisnis	Rp 40.000.000
13	Atik Purmiyati, SE.,M.Si.,Ph.D. Rossanto Dwi Handoyo, SE.,M.Si.,Ph.D. Dr. Wisudanto, SE.,MM.	ARYAPUTRA WAHYU PAMUNGKAS 041611133104	PUF	FEB	Kajian Efisiensi Teknis Usaha Mikro Dalam Penggunaan Kredit Usaha Rakyat Dan Kredit Komersial Untuk Pengentasan Kemiskinan di Jawa Timur	Rp 40.000.000
14	Fatin Fadhilah Hasib, SE.,M.Si. Meri Indri Hapsari, SE., M.Si. Eko Fajar Cahyono, SE.,ME.	M.Bastomi Fahri Z. (Mahasiswa Pascasarjana)	PUF	FEB	<i>Sustainable Competitive Advantage Pada Baitul Maal Wat Tamwil (BMT)</i>	Rp 34.000.000
15	Prof.Dr. Anis Eliyana, SE.,M.Si. Dr. Ahmad Rizki Sridadi, SH.,MM.,MH.	Masyfuk Rizaludin NIM: 41311233027	PUF	FEB	Apakah Trust in Leader Memediasi Pengaruh <i>Ethical Leadership</i> dan <i>Job Authonomy</i> terhadap <i>Employee Creativity</i> ?	Rp 40.000.000

No	TIM PENELITI	NAMA MAHASISWA	SKEMA	Fakultas / Pusat Studi	JUDUL PENELITIAN	DANA
16	Dr. Indrianawati Usman, SE.,M.Sc. Dr. Windijarto, SE.,MBA.	Anung Anindita Pratiwi (041511233085)	PUF	FEB	<i>Comparative Study of Lean Management in Health Care Service. Amulticase Study</i>	Rp 40.000.000
17	Dr. Achsanía Hendratmi, SE.,M.Si. Dr. Muhamad Nafik Hadi Ryandono, SE.,M.Si. Puji Suci Sukmaningrum, SE.,CiFP.	Bella Suci Nur Laqobiyah Ulya (041511433072)	PUF	FEB	Model Manajemen Risiko Ketidapatuhan Syariah Pada Bank Syariah di Indonesia	Rp 36.500.000
18	Dr. Rudi Purwono, SE.,MSE. Dr. Lilik Sugiharti, SE.,M.Si. Rossanto Dwi Handoyo, SE.,M.Si.,Ph.D.	Nadiya Anita Rahmi (041524453003)	PUF	FEB	Liberalisasi Perdagangan Dan Keunggulan Komparatif: Studi Empiris di Indonesia dan Mitra Dagang Strategis	Rp 40.000.000
19	Dr. Ririn Tri Ratnasari, SE.,M.Si. Dr. Indrianawati Usman, SE.,M.Sc. Dr. Achsanía Hendratmi, SE.,M.Si.	Fadillah Nur Syafira (041611433195)	PUF	FEB	Kepemimpinan Islam dan Pemasaran Internal Terhadap Kinerja dan Kesejahteraan Karyawan Bank Islam di Jawa Timur	Rp 40.000.000
20	Dina Fitriasia Septiarini, SE.,MM.,Ak. Dian Filianti, SE.,M.Acc. Noven Suprayogi, SE.,M.Si.,Ak.	Basyasyatul Hanafiyah (041611433018)	PUF	FEB	<i>Model Of Family Business Company Concept For Sustainability In Disruption Era</i>	Rp 40.000.000
21	Yetty Dwi Lestari, SE.,MT. Febriana Wurjaningrum, SE.,MT. Tuwanku Aria Auliandri, SE.,M.Sc.	Zuyyina Choirunnisa (041714153017)	PUF	FEB	Kapasitas Perubahan Organisasi Dan Fleksibilitas Strategi Pada Kinerja Perguruan Tinggi	Rp 40.000.000
22	Habiburrochman, SE.,M.Si.,Ak., CA, CPA Dina Heriyati., SE.,M.For.Accy	Angga Khoerul Umam (Mahasiswa Pascasarjana)	PUF	FEB	Pengaruh Pengalaman dan Pelatihan dalam Risk Assessment dan Fraud Detection Antara Novice Auditor dan Experienced Auditor: Suatu Pendekatan Eksperimen	Rp 40.000.000
23	Anak Agung Gde Satia Utama, SE.,M.Ak.,Ak. Izzato Millati, M.IP. Deddy Kurniawansyah, SE.,MA.	Shandy Harianto (0415115355046)	PUF	FEB	Sistem Informasi Akuntansi Laku Pandai: Mewujudkan Inklusi Keuangan Berbasis Financial Technology Pada Sektor Umkm di Banyuwangi	Rp 40.000.000
24	Damai Nasution, SE.,M.Si.,Ak.,D.Sc. Prof.Dr. Dian Agustia, SE.,M.Si.,Ak. Devi Sulistyó Kalanjati, SE.,M.Acc.,M.Sc.,Ak. M.Bastomi Fahri Z. (Mahasiswa Pascasarjana)	Andhita Rosy Febrina	PUF	FEB	<i>CEO Dan CFO Attributes Audit Committee Characteristics And Accounting Conservatism</i>	Rp 40.000.000

No	TIM PENELITI	NAMA MAHASISWA	SKEMA	Fakultas / Pusat Studi	JUDUL PENELITIAN	DANA
25	Dr. Irham Zaki, S.Ag.,MEI. Fatin Fadhilah Hasib, SE.,M.Si. Drs.R. Moh. Qudsi Fauzi, MM.	Bastomi Fahri Zusak (091724553025)	PUF	FEB	Strategi Pengembangan Wakaf Oleh BMT Sebagai Nadhir i Jawa Timur	Rp 37.500.000
26	Dr. Lilik Sugiharti, SE.,M.Si. Dr. Rudi Purwono, SE.,MSE. Dr. Miguel Angel Esquivias Padilla, M.SE.	Nadiya Anita Rahmi (041524453003)	PUF	FEB	Apakah De-Industrialisasi Terjadi Pada Koridor Industri Manufaktur Nasional di Indonesia?	Rp 40.000.000
27	Jovi Sulistiawan, SE.,MSM. Dian Ekowati, SE.,M.Si.,M.App.Com.(OrgChg.),Ph.D. Dr. Aris Armuninggar, SH., MH.	Stephanie Geovani (041511233035)	PUF	FEB	<i>Career Paradox: Movement Capital, Employability and Turnover Intention Among Millennials</i>	Rp 40.000.000
28	Dr. Imron Mawardi, SP.,M.Si. Dr. Sri Ningsih, SE.,M.Si.,Ak. Puji Sucia Sukmaningrum, SE.,CiFP.	Muhammad Ubaidillah	PUF	FEB	Model dan Strategi Penerbitan Sukuk Daerah	Rp 36.000.000
29	Dr. Erina Sudaryati, Dra.,MS.,Ak. Prof.Dr. Dian Agustia, SE.,M.Si.,Ak. Muhamamd Ubaidillah A. (Mahasiswa Pascasarjana)	Rizki Amalia Elvita (041624253020)	PUF	FEB	Pengaruh Religiusitas dan Komitmen Profesional Internal Auditor dan Dampaknya Terhadap Perilaku Etis Aparat Pemeriksa Internal di Jawa Timur	Rp 40.000.000
30	Dr. Nisful Laila, SE.,M.Com. Dr. Muhammad Madyan, SE.,M.Si.,M.Fin Dr. Rahmat Setiawan, SE.,MM.	Himmatul Kholidah (091817077302)	PUF	FEB	Innovation Efficiency Terhadap Nilai Perusahaan Dengan Global Diversification Sebagai Variabel Moderasi	Rp 40.000.000
31	Devi Sulistyyo Kalanjati, SE.,M.Acc., M.Sc.,Ak. Dr. Sc. Damai Nasution, SE.,M.Si.,Ak.	Yudhi Mahendra	PUF	FEB	<i>The Antecedents and Consequents of Student Motivation on Achieving Learning Outcomes: The Case of Accounting Students</i>	Rp 40.000.000
32	Dr. Juni Ekowati, M.Si., Apt Kholis Amalia Nofianti, S.Farm., M.Sc., Apt. Dr. Iwan Sahrial Hamid, drh., M.Si. Maya Nurwartanti Yunita, drh., M.Si.	Tiara Puspa Asriningrum	PUF	FF	Evaluasi Mekanisme Khemopreventive Kanker dan Efek Samping Dari Asam 3-(3-Metoksifenil) Propenoat	Rp 40.000.000
33	Dr. Nuzul Wahyuning Diyah, M.Si., Apt. Prof. Dr. Siswandono, MS., Apt. Dr. Isnaeni, MS., Apt.	Nada Aprilliya (051511133039)	PUF	FF	Pemodelan Molekul dan Modifikasi Struktur Senyawa Turunan Benzoil-1,3-Dietilurea Tersubstitusi Halogen untuk Menghasilkan Senyawa Antibakteri	Rp 40.000.000

No	TIM PENELITI	NAMA MAHASISWA	SKEMA	Fakultas / Pusat Studi	JUDUL PENELITIAN	DANA
34	Prof. Dr. Sugijanto, MS., Apt. Prof. Dr. Noor Erma Nasution, MS., Apt. Kholis Amalia Nofianti, S.Farm., M.Sc., Apt.	Citra Hayu Adi Makayasa (051624153004)	PUF	FF	Identifikasi dan Kuantifikasi Fitosterol pada Vigna Unguiculata (L.) dan Lablab Purpureus l. Sebagai Alternatif Pangan Fungsional Penderita Kolesterol	Rp 40.000.000
35	Dr. Dewi Isadiartuti, M.Si., Apt. Dr. Juni Ekowati, M.Si., Apt. Abhimata Paramanandana, S.Farm., M.Sc., Apt.	Anindya Ramadhanti Y. (051511133014)	PUF	FF	Pembentukan Kompleks Inklusi Asam Para- Metoksisinamat (APMS)- β-Siklodekstrin dengan Metode Co-Grinding	Rp 40.000.000
36	Dewi Melani Hariyadi, S.Si., M.Phil., Ph.D. Apt. Dr. Noorma Rosita, M.Si., Apt. Dr. Isnaeni, MS., Apt. Sisunandar, Ph.D.	Deavisca Rezanía (051511133182)	PUF	FF	Formulasi dan Karakteristik Fisik Produk Gel Virgin Coconut Oil (VCO) Kelapa Kopyor (cocos nucifera linn.) Sebagai obat anti jerawat: Pengaruh Konsentrasi VCO dan Gelling Agent Carbopol	Rp 40.000.000
37	Elida Zairina, S.Si., MPH., Ph.D., Apt Arie Sulistyarini, S.Si., M.Pharm., Apt. Gesnita Nugraheni, S.Farm., M.Sc., Apt	Sindy Irvana K.S (051511133035) Elinda Eka R. (051511133047) Yenni Desilia I. (051511133042) Sonia Martalia S. (051511133197) Safira Indah Lestari (051511133081) Nadifa Truly Insani (051511133229) Ayudika Permatasari (051511133212)	PUF	FF	Analisa Hubungan Medication Adherence Barriers dan Kepatuhan Pengobatan pada Pasien Penyakit Kronis di Puskesmas Wilayah Surabaya	Rp 40.000.000
38	Dr. Muh. Agus Syamsur Rijal, S.Si., M.Si., Apt. Dr. rer.nat. Maria Lucia Ardhani Dwi Lestari, S.Si., M.Pharm.Sci., Apt.	Itsna Fadlilatul Arifah (051511133041)	PUF	FF	Pengembangan Sistem Misel Kombinasi Poloxamer-Tpgs Sebagai Nanokarier Untuk Senyawa Antikanker Bahan Alam	Rp 40.000.000
39	Prof. Dr. Suharjono, MS., Apt Dr. Budi Suprapti, M.Si., Apt. Prof. dr. Muhammad Yogiarto, Sp.JP(K). Bambang Subakti Zulkarnain, S.Si., M.Clin.Pharm., Apt.	Wenny Putri Nilam S. (051517097303)	PUF	FF	Identifikasi Faktor Faktor Yang Berpengaruh Terhadap Kualitas Capaian Terapi Antikoagulan Warfarin	Rp 40.000.000

No	TIM PENELITI	NAMA MAHASISWA	SKEMA	Fakultas / Pusat Studi	JUDUL PENELITIAN	DANA
40	Dr. Asri Darmawati, M.S., Apt. Febri Annuryanti, S.Farm., M.Sc., Apt. Prof. Dr. Djoko Agus Purwanto, M.Si., Apt.	Ali Nur Ad Deen (051511133157) Indi Bustanil Haq (051511133125)	PUF	FF	Penentuan Kadar EGCG Dan Kofein Dalam Produk Tea Hijau Dan Tea Hitam Menggunakan Kromatografi lapisan Tipis	Rp 40.000.000
41	Dr. Budi Suprapti, M.Si., Apt. Zamrotul Izzah, S.Farm., M.Sc., Apt. Cahyo Wibisono Nugroho, dr., Sp.PD. Arina Dery Puspita Sari, S.Farm., M.Farm.Klin., Apt.	Isra Desy Mutiana (051511133049) Rizky Silvia (051511133165)	PUF	FF	Pengaruh Konsuling Apoteker Dan Pengawas Minuman Obat (PMO) Terhadap Peningkatan Pengetahuan Kepatuhan Dan Pencapaian Target Terapi Pada Pasien DM 2 Rawat Jalan	Rp 40.000.000
42	Drs. Mochamad Djunaedi, M.Pharm., Ph.D., Apt. Dr. Umi Athiyah, M.S., Apt. Dr. Wahyu Utami, MS., Apt. Yuni Priyandani, S.Si., Sp.FRS., Apt.	Virnanda Syafira H. (051711133178) Anak Agung Freda (051711133202) Aisyah Nabila R. (051711133234)	PUF	FF	Dampak Pengobatan Komplementer dan Alternatif Yang Digunakan pada Kualitas Hidup Pasien dengan Diabetes Mellitus Tipe 2	Rp 40.000.000
43	Dr. Yunita Nita, S.Si., M.Pharm., Apt. Mufarrihah, S.Si., M.Sc., Apt. Arie Sulistyarini, S.Si., M.Pharm., Apt.	Fitri Nurmalasari (051511133147) Dias Putri Wardahnasari (05151113314) Tutut Dwi Cahyati (051511133026) Diva Adriadne Cerelia (051511133194)	PUF	FF	Cost Of Illness pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 di Puskesmas Wilayah Surabaya	Rp 40.000.000
44	Dr. Riesta Primaharinastiti, S.Si., M.Si., Apt Catur Dian Setiawan, S.Farm., M.Kes., Apt. Dra. Toetik Aryani, M.Si., Apt.	Dania (051511133158)	PUF	FF	Aplikasi Chemometric Sebagai Metode Penjaminan Mutu Bahan Baku Madu Pada Sediaan Farmasi	Rp 40.000.000
45	Gusti Noorrizka Veronika Achmad, S.Si., M.Sc., Apt. Dr. Liza Pristianty, M.Si., M.M., Apt Dr. Abdul Rahem, M.Kes., Apt.	Lea Nanda Yufria (051511133161) Lu'lu'atul Fuadiyah (051511133045)	PUF	FF	Konseling dan Kepatuhan Penderita Hipertensi dan Diabetes Mellitus Tipe 2	Rp 40.000.000
46	Dr. M. Hadi Shubhan, S.H, M.H, C.N. Indrawati, S.H.,LL.M Dri Utari Christina Rachmawati, S.H.,LL.M (Mahasiswa S3)		PUF	FH	Model Hukum Kepailitan BUMN Untuk Menciptakan Kemandirian Ekonomi Dan Daya Saing Bangsa	Rp 33.500.000
47	Iqbal Felisiano, S.H., LL.M. Franky Butar Butar, S.H., M.Dev.Prac.	Rabbani Sahagrana	PUF	FH	Model Pengaturan Kerugian Lingkungan Sebagai Keuangan Negara Dalam	Rp 40.000.000

No	TIM PENELITI	NAMA MAHASISWA	SKEMA	Fakultas / Pusat Studi	JUDUL PENELITIAN	DANA
	Nilam Andalia Kurniasari, S.H., LL.M. Dr. Intan Inayatun Soeparna, S.H., M.Hum				Tindak Pidana Korupsi Di Indonesia	
48	Dr. Aktieva Tri Tjitrawati, S.H., M.Hum. Dr. Enny Narwati, S.H., M.H Dr. Lina Hastuti, S.H., M.H A. Indah Camelia, S.H., M.H	Rama Surya Pradhipta	PUF	FH	Pendekatan Hak Asasi Manusia Terhadap Peraturan Mitigasi Bencana Alam di Indonesia	Rp 40.000.000
49	Dr. Radian Salman, S.H., LL.M Dr. Rosa Ristawati, S.H., LL.M Wilda Prihatiningtyas, S.H., M.H	Riza Novandra, S.H	PUF	FH	Ambang Batas Pencalonan Presiden Dan Efek Ekor Jubah Dalam Kerangka Penguatan Sisten Presidensiil	Rp 40.000.000
50	Mohammad Syaiful Aris, S.H., M.H., LL.M. Dr. Radian Salman, S.H.,LL.M Dr. Rosa Ristawati, S.H.,LL.M	Sayyidatul Insiyah	PUF	FH	Desain model pemilihan umum untuk penguatan sistem persidensiil di Indonesia	Rp 40.000.000
51	Prof. Dr. Sri Hajati, S.H., M.S. Oemar Moechthar, S.H., M.Kn	Regine Wiranata Katherine Abidea Salim	PUF	FH	Konsepsi Indigeneous People Dalam Konstelasi Sistem Hukum Adat Di Indonesia	Rp 40.000.000
52	Dr. Dina Sunyowati, S.H., M.Hum. Dr. Lina Hastuti, S.H., M.H. A Indah Camelia, S.H., M.H.	Megawati Widjaya	PUF	FH	Urgensi Penguatan Hukum Instalasi Kabel Dan Pipa Bawah Laut di Indonesia	Rp 31.400.000
53	Dr. Intan Innayatun Soeparna, S.H., M.Hum. Masitoh Indriani, S.H., LL.M. Nilam Andalia Kurniasari, S.H., LL.M.	Bima Danubrata Adhijoso	PUF	FH	Penerapan Teknologi Blockchain di Bidang Agri- Insurance Berdasarkan Perundang Undangan Pertanian	Rp 29.430.000
54	Iman Prihandono, S.H., M.H., LL.M., Ph.D. Widhayani Dian Pawestri, S.H., M.H	Joel Niyobuhungiro, LL.B.	PUF	FH	Analisa Kritis Divestasi Saham PT Freeport Indonesia: Lesson Learned bagi Reformasi Hukum Investasi Di Sektor Pertambangan	Rp 29.950.000
55	Dr. Sri Winarsi, S.H., M.H. Agus Widyantoto, S.H., M.H. Bagus Oktafian Abrianto, S.H., M.H.	Firdaus Faisal Merdekawan Susanto	PUF	FH	Eksistensi dan Bentuk Badan Hukum BUMDES Dalam Rezim Pemerintahan Desa	Rp 40.000.000
56	Dr. Urip Santoso, S.H., M.H. Indrawati, S.H., LL.M.	Tahega Primananda A., S.H., M.H.	PUF	FH	Model Penggunaan Tanah Aset Pemerintah Kota Surabaya oleh Pihak Ketiga untuk keperluan mendirikan	Rp 40.000.000

No	TIM PENELITI	NAMA MAHASISWA	SKEMA	Fakultas / Pusat Studi	JUDUL PENELITIAN	DANA
					bangunan	
57	Dr. Sarwirini, S.H., M.S Dr. Lilik Pudjiastuti, S.H., M.H. Indrawati, S.H., LL.M.	Sigit Nugroho, S.H., M.H	PUF	FH	Model Sistem Pemungutan Pajak Lingkungan di Sektor Pertambangan yang berbasis Cost Recovery	Rp 40.000.000
58	Dr. Ghansam Anand, S.H.,M.Kn. Dr. Agung Sujatmiko., S.H., M.H.	Lintang Yudhantaka, S.H Chesa Ramadhan, S.H	PUF	FH	Urgensi Mitigasi Risiko Dalam Pendanaan Melalui Layanan Pinjam Meminjam Uang Berbasis Teknologi Informasi di Indonesia	Rp 27.750.000
59	Prof. Dr. Muchammad Zaidun, S.H., M.Si. Dr. Mas Rahmah, S.H., M.H., LL.M.	Fajar Athoiillah Sudaryanto	PUF	FH	Strategi Penataan Dan Regulasi Investasi Bidang Kemaritiman Melalui Pembiayaan Sukuk Dalam Mendukung Ketahanan Maritim	Rp 40.000.000
60	Dr. Lina Hastuti, S.H., M.H. Dr. Enny Narwati, S.H., M.H. A Indah Camelia, S.H., M.H.	Mella Fitriyatul H	PUF	FH	Perlindungan Hukum Bagi Pekerja Indonesia Pasca Meratifikasi Maritime Labour Convention 2006	Rp 40.000.000
61	Taufik Rachman, S.H., LL.M., Ph.D Dr. Maradona, S.H., LL.M Kukuh Leksono Suminaring Aditya, S.H., LL.M	Akbar Rizky Pratama	PUF	FH	Private Bribery Dalam Rancangan Undang-Undang Tindak Pidana Korupsi dan Undang-Undang Larangan Praktek Monopoli Dan Persaingan Usaha Tidak Sehat	Rp 35.000.000
62	Mochtar Lutfi, S.S., M.Hum Drs. Eddy Sugiri, M.Hum Moch. Ali, S.S., M.A.Min	Hamdalah Akbar T.	PUF	FIB	Pengembangan Industri Kreatif LUDRUK dan KETOPRAK sebagai Upaya dalam Pembelajaran Politik Masyarakat	Rp 40.000.000
63	Drs. Muryadi, M.IP Shinta Devi Ika Santhi Rahayu, S.S., M.A Dr. Sukaryanto, M.Si	Yuliana Nur Hidayah	PUF	FIB	Warisan Budaya Yang Terancam: Vandalisme Cagar Budaya di Kabupaten Lamongan Jawa Timur	Rp 40.000.000

No	TIM PENELITI	NAMA MAHASISWA	SKEMA	Fakultas / Pusat Studi	JUDUL PENELITIAN	DANA
64	Diah Ariani Arimbi, S.S., M.A., Ph.D Rizki Andini, S.Pd., M.Litt., Ph.D Ikhsan Rosyid Mujahidul Anwari, S.S., M.A. Adrian Perkasa, M.A.	Eka Nurul Farida	PUF	FIB	Hoofdbureau Van Politie Dan Pengembangannya Sebagai Cagar Budaya Kota Surabaya	Rp 40.000.000
65	Drs. Eddy Sugiri, M.Hum Dra. Dwi Handayani, M.Hum Mochtar Lutfi, S.S., M.Hum	Elsan Rizki Bagus Saputra	PUF	FIB	Perspektif Onomastik Pada Masyarakat Jawa Berdasarkan Stratifikasi Sosial: Kajian Etnolinguistik	Rp 40.000.000
66	Rizki Andini, S.Pd., M.Litt., Ph.D Diah Ariani Arimbi, S.S., M.A., Ph.D Ikhsan Rosyid Mujahidul Anwari, S.S., M.A. Adrian Perkasa, M.A.	Gita Ayu Cahyaningrum	PUF	FIB	Dari Polisi Kolonial ke Kepolisian Resor Kota Besar Surabaya Sejarah Kepolisian Surabaya 1911-2018	Rp 40.000.000
67	Dr. Rahma Sugihartati, M.Si Helmy Prasetyo, S.Sos., M.KP Meinia Prayesti Kurniasari, S.IIP., MA	Latif Saifudin (071511633034)	PUF	FISIP	Perilaku Mengakses Pornografi Internet dan Pleasure Berbasis Digital: Pengaruh <i>Habitus</i> di Kalangan Remaja Urban	Rp 30.000.000
68	Dr. Rustinsyah, M.Si. Dr. Muhammad Adib, MA	WakHidatul Qomariyah (0715511733043)	PUF	FISIP	Modal Sosial Untuk Pengelolaan dan Mitigasi Bencana Banjir di Desa-Desa Lembah Sungai Bengawan Solo, Kecamatan Plumpang, Kabupaten Tuban	Rp 30.000.000
69	Dr. Sutinah, M.S. Drs. Sudarso, M.Si Siti Mas'udah, S.Sos., M.Si	Lana Faikho Zakhiro (071811433024)	PUF	FISIP	Fanatisme dan Perilaku Anarkis Suporter Sepakbola	Rp 30.000.000
70	Sartika Soesilowati, Dra., MA., Ph.D. Lilik Salamah, Dra., M.Si Dr. Siti Aminah, M.A	Fristy Chintya Laksmi P., S.Hub.Int. (071814553003)	PUF	FISIP	Peran dan Kepentingan Nasional Indonesia sebagai UNSC - Non Permanent Member	Rp 30.000.000
71	Dr. Septi Ariadi, MA Dra. Udji Asiyah, M.Si Ratna Azis Prasetyo, S.Sosio., M.Sosio	Grace Deby Puja (071611433055)	PUF	FISIP	Hegemoni Tanding (<i>Counter Hegemony</i>) dan Produksi Wacana Alternatif (<i>Otherness</i>) tentang Sistem Pengobatan dalam Masyarakat (Studi Kritis terhadap Sistem Pengobatan Modern Rezim Medis)	Rp 30.000.000

No	TIM PENELITI	NAMA MAHASISWA	SKEMA	Fakultas / Pusat Studi	JUDUL PENELITIAN	DANA
72	Titik Puji Rahayu, S.Sos., M.Comms., Ph.D Kandi Aryani Suwito, S.Sos., MA Rendy Pahrhun Wadipalapa, S.I.Kom., MA	Robbyan Abel (071511533041)	PUF	FISIP	Buruh PERS Digital dan Kasualisasi Profesi Jurnalis dalam Industri Pers Indonesia	Rp 30.000.000
73	Dr. Dra. Tuti Budirahayu, M.Si Drs. Sudarso, M.Si Novri Susan, Ph.D	Marhaeni Mega Wijayanti (071714753011)	PUF	FISIP	Kesiapan Masyarakat dan Pemerintah Daerah dalam Upaya Mengantisipasi (Pra) dan Menangani (Pasca) dampak Sosial Bencana Alam: Studi Kasus di Kecamatan Lombok Utara, NTB	Rp 30.000.000
74	Prof. Rachmah Ida, Dra., M.Comms., Ph.D Prof. Dr. Musta'in, Drs., M.Si Muhammad Saud (Mahasiswa S3)		PUF	FISIP	Democratic Practices and Youth Participation in politics: A Comparative Study of South and East Asia (Indonesia and Pakistan)	Rp 30.000.000
75	Drs. Koko Srimulyo, M.Si. Helmy Prasetyo Yuwinanto, S.Sos., M.KP Meinia Prayesti, S.IIP., MA	Renaldy Oktavianoor (071511633070) Achmad Rizki (071511633027) Sefti Dyan Ferdiana (071511633044)	PUF	FISIP	Penilaian Kualitas Layanan Perpustakaan Perguruan Tinggi dalam Perspektif Gaya Hidup Mahasiswa Urban	Rp 30.000.000
76	Sri Endah Kinasih, Dra., MA Dr. Santi Isnaini, S.Sos., MM Kandi Aryani Suwito, S.Sos., MA	Celine Anjanette (071511533069)	PUF	FISIP	Kekerasan pada Anak di Media Sosial: Jejaring Informasi dan Aktivisme Siber pada Ruang Virtual	Rp 30.000.000
77	Irfan Wahyudi, S.Sos., M.Comms., Ph.D Prof. Rachmah Ida, Dra., M.Comms., Ph.D Associate Professor Panizza Allmark (Edith Cowan University Australia)	Livia Ersa Pertiwi (071611533093) Rahmatika Ajeng Rahardjo (071611533020)	PUF	FISIP	<i>Milennial Indonesian Migrant Workers and Mobile Identity: Gender, Identity and Mobile Communications</i>	Rp 30.000.000
78	Citra Hennida, SIP., MA Irfa Puspitasari, S.IP., MA	Kholifatus Saadah, S.Hub.Int., M.Hub.Int (Mahasiswa S2)	PUF	FISIP	Peningkatan Daya Saing Sawit Indonesia Melalui Sertifikasi Sawit Internasional dan Nasional	Rp 30.000.000
79	Siti Mas'udah, S.Sos., M.Si Prof. Dr. Emy Susanti., MA	Sughmita Maslacha Amala, S. (071511433021)	PUF	FISIP	Kajian Tentang Gender dan Kekerasan dalam Rumah Tangga di Kalangan Keluarga Profesional	Rp 30.000.000

No	TIM PENELITI	NAMA MAHASISWA	SKEMA	Fakultas / Pusat Studi	JUDUL PENELITIAN	DANA
80	Dr.Gondo Mastutik, S.KH., drh., M.Kes Anny Setijo Rahaju, dr., Sp.PA(K) Nila Kurniasari, dr., Sp.PA(K)	Lale Maulin Prihatina,dr (011718146301)	PUF	FK	Deteksi Infeksi Human Cytomegalovirus dengan PCR Konvensional dari Spesimen Urin Dibandingkan Pemeriksaan Serologis pada Bayi Penderita Kolestasis	Rp 40.000.000
81	Alphania Rahniayu, dr., Sp.PA(K) Dr. Gondo Mastutik, S.KH., drh., M.Kes Dr. Willy Sandhika, dr., M.Si., Sp.PA(K)	Nova Chumaladewi Guntarno,dr (011628146302)	PUF	FK	Korelasi Infeksi Human Cytomegalovirus dengan Gambaran Histopatologi dari Biopsi Liver Bayi Penderitga Kolestasis	Rp 40.000.000
82	Prastiya Indra Gunawan, dr., Sp.A Prof. Dr. Darto Saharso, dr., Sp.A(K)	Riza Noviandi,dr.,SpA	PUF	FK	Pengaruh Transplantasi Intraserebral Adipose Derived Neural Progenitor Stem Cell Terhadap Proses Inflamasi Pasca Iskemia Otak	Rp 40.000.000
83	Dr. Juniastuti, dr., M.Kes Laura Navika Yamani, S.Si., M.SI., Ph.D Rury Mega Wahyuni, drh., M.Si	Putri Sari Wulandari,dr (011714253005)	PUF	FK	Analisis Serologi dan Molekuler NOROVIRUS Serta Karakteristik Klinis pada Pasien anak dengan diare Akut di Provinsi Jambi	Rp 40.000.000
84	Dr. Soedarsono, dr., Sp.P(K) Prof. Dr. Ni Made Mertaniasih, dr., MS., Sp.MK(K) Helmia Hasan, dr., SpP(K), M.Pd.Ked, FCCP. Tutik Kusmiati, dr., Sp.P.(K).	Shinta Karina Yuniati (011418096301)	PUF	FK	Peran Line Probe Assay Dalam Diagnosa TB Resisten Obat pada Pasien TB Paru BTA Negatif	Rp 40.000.000
85	Dr. Gatot Soegiarto, dr., Sp.PD-KAI Dr. Yuliasih, dr., Sp.PD-KR Deasy Fetarayani, dr., Sp.PD-KAI	Rizqi Wachida, dr (PPDS) (011328026306)	PUF	FK	Korelasi Kadar 25 (OH) D Dengan Aktivitas Penyakit Systemic Lupus Erythematosus	Rp 37.000.000
86	M.P. Budyandini D. Pramesti, dr., M.Kes., Sp.And Sri Musta'ina, Dra., M.Kes Dr. Rina Yudiwati, dr., M.S	Andrian, dr (011718216303)	PUF	FK	Efektivitas Induksi Bone Morphogenetik Protein-4 dan Retionic Acid pada Diferensiasi Sel Punca Mesenkimal Adiposa Pria Menjadi Sel Punca Spermatogonial Secara In Vitro	Rp 38.500.000



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
FAKULTAS KEDOKTERAN

Kampus A Jl. Mayjen Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya 60131 Telp. (031) 5020251, 5030252-3 Fax. (031) 5022472
Website : <http://www.fk.unair.ac.id> e-mail : dekan@fk.unair.ac.id

**KONTRAK PELAKSANAAN PENELITIAN UNGGULAN FAKULTAS
UNIVERSITAS AIRLANGGA TAHUN 2019
Nomor : 2990 /UN3.1.1/LT/2019**

Pada hari ini rabu tanggal enam bulan maret tahun dua ribu sembilan belas, kami yang bertandatangan di bawah ini:

- 1. Prof.Dr. Soetojo,dr.,Sp.U(K)** : Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang berkedudukan di Surabaya, dalam hal ini bertindak untuk dan atas nama Rektor Universitas Airlangga selanjutnya disebut **PIHAK PERTAMA;**
- 2. Dr.Gondo Mastutik, S.KH., drh., M.Kes** : Dosen Universitas Airlangga dalam hal ini bertindak sebagai pengusul dan Ketua Pelaksana Penelitian Tahun Anggaran 2019 untuk selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA.**

PIHAK PERTAMA dan PIHAK KEDUA secara bersama-sama bersepakat mengikatkan diri dalam suatu Kontrak Pelaksanaan Penelitian Unggulan Fakultas Universitas Airlangga Tahun 2019 dengan ketentuan dan syarat-syarat yang diatur dalam pasal-pasal berikut:

**PASAL 1
DASAR HUKUM**

Kontrak Pelaksanaan Penelitian Unggulan Fakultas Universitas Airlangga Tahun 2019 ini berdasarkan kepada:

1. Rencana Kegiatan Anggaran Tahunan (RKAT) Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Tahun Anggaran 2019;
2. Keputusan Rektor Universitas Airlangga Nomor 1408/UN3/2019, tanggal 22 Maret 2019, tentang Pelaksanaan Penelitian Internal Universitas Airlangga Hibah Riset Mandat, Penelitian Unggulan Fakultas dan Penelitian Dosen Pemula Tahun 2019.

**PASAL 2
HAK DAN KEWAJIBAN**

- (1) PIHAK PERTAMA memberi tugas kepada PIHAK KEDUA, dan PIHAK KEDUA menerima tugas sebagai penanggungjawab pelaksanaan Penelitian Unggulan Fakultas Universitas Airlangga Tahun 2019 dengan judul:

**" Deteksi Infeksi Human Cytomegalovirus dengan PCR Konvensional dari Spesimen Urin
Dibandingkan Pemeriksaan Serologi pada Bayi Penderita Kolestasis"**

- (2) PIHAK KEDUA bertanggungjawab penuh dalam pelaksanaan penelitian sebagaimana dimaksud pada ayat (1);
- (3) Pelaksanaan penelitian sebagaimana dimaksud pada ayat (1) wajib menghasilkan luaran minimal **satu publikasi** pada Jurnal Ilmiah Internasional terindeks di Scopus minimal Quartil 3 (Q3) dengan ketentuan ketua peneliti sebagai penulis pertama (*first author*) dan atau penulis korespondensi (*corresponding author*) serta melibatkan semua anggota peneliti;
- (4) PIHAK KEDUA wajib melaporkan pelaksanaan penelitian dengan melakukan hal-hal berikut:
 - a. Mencatat semua kegiatan pelaksanaan penelitian pada Buku Harian Penelitian (*logbook*) dan mengisi kegiatan harian secara rutin terhitung sejak penandatanganan kontrak;
 - b. Menyiapkan bahan pemantauan/monev internal dengan membuat Laporan Kemajuan mengikuti format Panduan Penelitian Unggulan Fakultas dan aturan keuangan yang berlaku;
 - c. Menyiapkan bahan presentasi monev internal mengikuti format Panduan;
 - d. Menyiapkan Laporan Akhir penelitian dan mempresentasikannya sebagai pemaparan hasil penelitian;
 - e. Melaporkan dan menyerahkan bukti luaran penelitian yang dihasilkan serta menyerahkan bukti fisik penggunaan keuangan sebagai pertanggungjawaban keuangan (SPj.)

PASAL 3 JANGKA WAKTU

PIHAK KEDUA melaksanakan dan menyelesaikan penelitian sebagaimana dimaksud pada Pasal 2 ayat (1), terhitung mulai tanggal **1 Maret s.d. 7 Desember 2019**.

PASAL 4 CARA PEMBAYARAN

- (1) PIHAK PERTAMA memberikan dana untuk kegiatan sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1) sebesar **Rp 40.000.000,- (empat puluh juta rupiah)**, dibebankan pada Rencana Kegiatan Anggaran Tahunan (RKAT) Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Tahun Anggaran 2019;
- (2) Dana pelaksanaan penelitian ini dibayarkan oleh PIHAK PERTAMA kepada PIHAK KEDUA secara bertahap, dengan ketentuan sebagai berikut:
 - a) Pembayaran tahap pertama sebesar **70 %** dari total bantuan dana yaitu **70% X Rp 40.000.000,- = Rp 28.000.000,- (dua puluh delapan juta rupiah)** dibayarkan oleh PIHAK PERTAMA kepada PIHAK KEDUA setelah penandatanganan kontrak;
 - b) Pembayaran Tahap Kedua sebesar **30 %** dari total bantuan dana kegiatan yaitu **30% X Rp 40.000.000,- = Rp 12.000.000,- (dua belas juta rupiah)** dibayarkan setelah PIHAK KEDUA menyelesaikan pekerjaan dan menyerahkan semua berkas kepada PIHAK PERTAMA, berupa:
 - Laporan Kemajuan Pelaksanaan Penelitian Unggulan Fakultas sebanyak 2 (dua) eksemplar paling lambat **15 Juli 2019**;

- Laporan Akhir Hasil Pelaksanaan Penelitian Unggulan Fakultas sebanyak 5 (lima) eksemplar paling lambat **31 Oktober 2019**;
- Softcopy Abstrak dan Artikel Ilmiah berdasarkan Laporan Akhir Penelitian Unggulan Fakultas;
- Softcopy Laporan Akhir Hasil Penelitian Unggulan Fakultas dan Rekapitulasi Keuangan 100% dalam format pdf.
- Laporan/bukti fisik penggunaan keuangan (SPj.) 100% sebanyak satu eksemplar paling lambat **7 Desember 2019**;
- Bukti luaran yang dihasilkan berupa paper/Artikel Ilmiah yang telah terpublikasi (*publish/accepted*) di Jurnal Internasional terindeks Scopus Minimal Quartil 3 (Q3) paling lambat **30 April 2020** dan telah mendapat persetujuan (*approval*) dari Ketua LPI.

(3) Pendanaan **Kontrak Penelitian** sebagaimana dimaksud pada ayat (2) dibayarkan kepada peneliti berdasarkan data sebagai berikut.

Nama Peneliti	: Dr.Gondo Mastutik, S.KH., drh., M.Kes
Nomor Rekening	: 1410009805581
Nama penerima pada rekening	: Dr.Gondo Mastutik, S.KH., drh., M.Kes
Nama Bank	: Mandiri
NPWP Perguruan Tinggi	: 73.773.758.5-619.000

(4) PIHAK KEDUA bertanggungjawab mutlak dalam pembelanjaan dana tersebut pada ayat (1) sesuai dengan proposal kegiatan yang telah disetujui dan berkewajiban untuk menyampaikan semua bukti-bukti pengeluaran dengan jumlah dana yang diberikan oleh PIHAK PERTAMA.

PASAL 5 PENGANTIAN KEANGGOTAAN

Apabila PIHAK KEDUA tidak dapat melaksanakan Penelitian Unggulan Fakultas ini, maka PIHAK KEDUA wajib menunjuk pengganti ketua pelaksana Penelitian yang merupakan salah satu anggota tim setelah mendapat persetujuan tertulis dari Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga;

PASAL 6 SANKSI

- (1) Laporan hasil pelaksanaan penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1) harus memenuhi ketentuan sebagaimana tercantum pada Panduan Pelaksanaan Penelitian Unggulan Fakultas Universitas Airlangga Tahun 2019;
- (2) Apabila sampai dengan batas waktu yang telah ditetapkan PIHAK KEDUA belum menyelesaikan tugasnya dan atau terlambat mengirim laporan Kemajuan dan atau terlambat mengirim laporan Akhir, maka PIHAK KEDUA dikenakan sanksi administratif;
- (3) Apabila PIHAK KEDUA tidak dapat memenuhi kewajiban utama menghasilkan luaran minimal **satu publikasi** di Jurnal Internasional terindeks Scopus sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2

- (4) ayat (3), maka akan diberikan sanksi mengembalikan dana yang telah diberikan secara proporsional.
- (5) Apabila PIHAK KEDUA tidak dapat melaksanakan penelitian ini maka harus mengembalikan dana yang tidak terserap kepada Rektor Universitas Airlangga melalui PIHAK PERTAMA;
- (6) Apabila di kemudian hari terbukti bahwa judul Penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1) dijumpai adanya indikasi duplikasi dengan Penelitian lain dan/atau diperoleh indikasi ketidakjujuran/itikad kurang baik yang tidak sesuai dengan kaidah ilmiah, maka kegiatan Penelitian tersebut dinyatakan batal dan PIHAK KEDUA wajib mengembalikan dana seluruhnya Penelitian kepada Rektor Universitas Airlangga melalui PIHAK PERTAMA.
- (7) Denda atau pengembalian dana sebagaimana tersebut di atas disetorkan ke Rektor Universitas Airlangga melalui PIHAK PERTAMA;

PASAL 7 PAJAK

PIHAK KEDUA berkewajiban menyetor pajak ke Kantor Pelayanan Pajak setempat yang berkenaan dengan kewajiban pajak berupa :

1. pembelian barang dan jasa dikenai PPN sebesar 10% dan PPh 23 sebesar 2%;
2. pajak-pajak lain sesuai ketentuan yang berlaku;
3. Pajak honorarium untuk non ketua dan non anggota peneliti sebesar 5% untuk yang memiliki NPWP dan 6% untuk yang tidak memiliki NPWP

PASAL 8 KEKAYAAN INTELEKTUAL

- (1) Hak Kekayaan Intelektual yang dihasilkan dari pelaksanaan Penelitian Unggulan Fakultas ini diatur dan dikelola sesuai dengan peraturan dan perundang-undangan yang berlaku;
- (2) Setiap publikasi, makalah, dan/atau ekspos dalam bentuk apapun yang berkaitan dengan hasil penelitian ini wajib mencantumkan **PIHAK PERTAMA** sebagai pemberi dana.
- (3) Publikasi tidak boleh *double counting* dengan luaran kegiatan pendanaan penelitian yang lain.
- (4) Hasil Hibah Penelitian berupa peralatan dan/atau alat yang dibeli dari kegiatan ini menjadi milik Universitas Airlangga yang dapat dihibahkan kepada institusi/lembaga/masyarakat melalui Berita Acara Serah Terima (BAST).

PASAL 9 PENYELESAIAN PERSELISIHAN

- (1) Apabila terjadi perselisihan antara PIHAK PERTAMA dan PIHAK KEDUA dalam pelaksanaan kontrak ini, maka akan dilakukan penyelesaian secara musyawarah untuk mufakat dan apabila tidak tercapai penyelesaian secara musyawarah dan mufakat maka penyelesaian

dilakukan melalui proses hukum yang berlaku dengan memilih domisili hukum di Pengadilan Negeri Surabaya;

- (2) Hal-hal yang belum diatur dalam perjanjian ini akan diatur kemudian oleh KEDUA BELAH PIHAK.

**PASAL 10
PENUTUP**

Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian Unggulan Fakultas Universitas Airlangga Tahun 2019 ini dibuat rangkap 2 (dua) bermeterai cukup sesuai dengan ketentuan yang berlaku, dan biaya meterai dibebankan kepada PIHAK KEDUA.

PIHAK KEDUA



Dr. Gondo Mastutik, S.KH., drh., M.Kes
NIP. 197306272002122001

PIHAK PERTAMA



Prof. Dr. Soetojo, dr., Sp.U(K)
NIP. 195606081986121001

Kode>Nama Rumpun Ilmu:
282/ Patologi Anatomi

**LAPORAN AKHIR
PENELITIAN UNGGULAN FAKULTAS**



**Deteksi Infeksi *Human Cytomegalovirus* dengan
PCR Konvensional dari Spesimen Urin Dibandingkan Pemeriksaan
Serologis pada Bayi Penderita Kolestasis**

Tim Pengusul

- | | |
|--|-----------------|
| 1. Dr. GondoMastutik, S.KH.,drh., M.Kes. | NIDN0027067304 |
| 2. Anny SetijoRahaju, dr., Sp.PA(K) | NIDN 0020097009 |
| 3. Nila Kurniasari, dr., SpPA (K) | NIDN 0023018107 |

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
OKTOBER 2019**

HALAMAN PENGESAHAN
PENELITIAN UNGGULAN FAKULTAS

Judul Penelitian : Deteksi Infeksi *Human Cytomegalovirus* dengan PCR Konvensional dari Spesimen Urin Dibandingkan Pemeriksaan Serologis pada Bayi Penderita Kolestasis

Kode / Nama Rumpun Ilmu : 282 / Patologi Anatomi

KetuaPeneliti

a. Nama Lengkap : Dr. Gondo Mastutik, drh. M. Kes
b. NIDN : 00270673
c. Jabatan Fungsional : Lektor
d. Program Studi : Patobiologi
e. Nomor HP : 081231071818
f. Alamat surel (e-mail) : gondomastutik@fk.unair.ac.id; gondomastutik@gmail.com

Anggota Peneliti (1)

a. Nama Lengkap : Anny SetijoRahaju, dr., Sp.PA(K)
b. NIDN : 0020097009
c. Fakultas : Kedokteran

Anggota Peneliti (2)

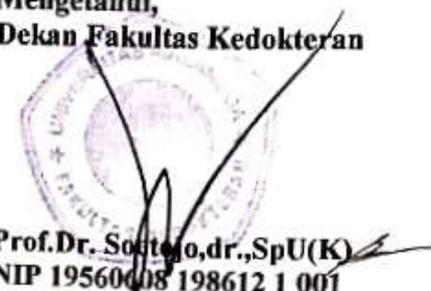
a. Nama Lengkap : Nila Kurniasari, dr., SpPA (K)
b. NIDN : 0023018107
c. Fakultas : Kedokteran

Mahasiswa

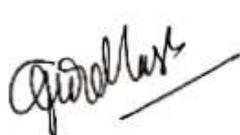
a. Nama Lengkap : Lale Maulin Prihatina, dr
b. NIM : 011718146301
c. Fakultas : Kedokteran

Biaya Penelitian : Rp. 40.000.000,-

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran


Prof. Dr. Soetomo, dr., SpU(K)
NIP 195604081986121001

Surabaya, 30 Oktober 2019
KetuaPeneliti


Dr. Gondo Mastutik, drh., M. Kes
NIP 197306272002122001

RINGKASAN

Pendahuluan. Kejadian kolestasis pada masa bayi dikaitkan dengan kelainan kongenital atau infeksi virus yaitu infeksi *Human cytomegalovirus* (HCMV). Diagnosa infeksi HCMV pada bayi dilakukan dengan mengisolasi virus dari urin dengan teknik kultur, serologi darah dengan memeriksa deteksi IgM dan IgM anti HCMV, deteksi Antigen CMV dengan *antigenemia assay* pada sample darah. Pemeriksaan tersebut lama dan kurang spesifik. Teknik PCR merupakan teknik sensitif untuk mendeteksi HCMV ini dengan target gen *major immediate early* (MIE). Gen IE sudah terbentuk 2-4 jam post infeksi sehingga bisa mendeteksi infeksi HCMV lebih awal sehingga memungkinkan untuk mendeteksi DNA HCMV dari cairan tubuh sejak hari ke dua atau ketiga post infeksi dengan teknik PCR. Urin merupakan cairan tubuh yang mudah didapatkan dan tidak invasif pada bayi yang baru lahir. Virus bercampur dengan urin dan debris sel yang terdapat di sepanjang saluran perkemihan. Untuk kepentingan diagnosis maka perlu mempertimbangkan pemanfaatan prosedur ekstraksi DNA atau tidak dalam melakukan PCR HCMV dari spesimen urin karena menghilangkan satu langkah pemeriksaan berarti mengurangi waktu pemeriksaan dan menghemat biaya diagnosis sehingga dalam penelitian ini perlu melakukan optimasi ekstraksi DNA atau langsung PCR dari spesimen urin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengungkap korelasi deteksi infeksi HCMV dengan PCR konvensional dengan target gen MIE dan IE HCMV dari spesimen urine yang diekstraksi atau tidak diekstraksi dibandingkan dengan pemeriksaan serologis IgM dan IgG pada bayi penderita kolestasis.

Metode. Penelitian ini merupakan penelitian *observasional descriptive* dengan pendekatan *cross sectional* pada bayi penderita kolestasis yang dirawat di bagian Instalasi Rawat Inap Ilmu Kesehatan Anak RSUD Dr. Soetomo, Surabaya. Kriteria inklusi yaitu bayi penderita kolestasis yang usia 1-12 bulan. Kriteria eksklusi yaitu pasien yang sudah menerima terapi antivirus, pasien HIV, pasien tuberkulosis milier, pasien gizi buruk, riwayat menggunakan obat immunosupresi seperti kortikosteroid dan sitostatik, trombosit < 80.000 mg/dl, faal Hemostasis memanjang, dan ascites. Penelitian ini telah mendapatkan etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan, RSUD Dr Soetomo Surabaya. Subyek penelitian yang bersedia ikut dalam kegiatan penelitian ini, harus mendapatkan persetujuan dari orang tua atau wali dengan menandatangani surat persetujuan tertulis setelah menerima penjelasan *informed consent*.

Kadar IgM dan IgG HCMV diperoleh dari *The VIDAS CMV IgM and IgG Assay* (Biomerieux). Interpretasi IgM yaitu unit indeks IgM <0,7 negatif, $\leq 0,7 - 0,9$ equivocal, $\geq 0,9$ positif. Interpretasi IgG yaitu unit indeks IgG <4 negatif, $\geq 4 - <6$ equivokal, ≥ 6 positif. Identifikasi infeksi HCMV dilakukan dengan teknik PCR konvensional. PCR dilakukan secara nested PCR yaitu putaran pertama menggunakan primer MIE 4 dan MIE5, sedangkan PCR putaran kedua menggunakan primer IE1 dan IE2. Sekuen primer MIE4: 5'-CCA AGC GGC CTC TGA TAA CCA AGC C-3' dan MIE5: 5'-CAG CAC CAT CCT CCT CTT CCT CTG G-3' pada first round PCR dengan produk 435bp dan pasangan primer IE1: 5'- CCA CCC GTG GTG CCA GCT CC-3' dan IE2: 5'-CCC GCT CCT CCT GAG GAC CC-3' untuk second round PCR dengan produk 161bp.

Asosiasi antara hasil pemeriksaan serologis anti HCMV dengan pemeriksaan PCR urin yang diekstraksi dan yang langsung pada bayi penderita kolestasis dilakukan dengan Chi-square, jika berbeda nyata maka untuk mengetahui kekuatan hubungan dilihat coefficient contingency.

Hasil penelitian. Bayi penderita kolestasis pada penelitian sebanyak 39 bayi penderita kolestasis, yang terdiri dari 17 bayi laki-laki dan 22 bayi wanita, berusia antara 1-12 bulan dengan (mean \pm SD = 3,44 \pm 2,326). Pasien terdiri dari 32 berusia dibawah 4 bulan dan 7 pasien

berusia diatas 5 bulan. Kadar *direct/conjugated bilirubin* (D Bil) adalah 8.1221 ± 4.15911 (mean \pm SD) dan *total bilirubin* (T Bil) adalah 11.1603 ± 5.54247 (mean \pm SD).

Hasil pemeriksaan serologis menunjukkan bahwa 16/39 (41.0%) pasien positif IgM dan 35/39 (89.7%) pasien positif IgG. Hasil pemeriksaan serologi yang menunjukkan infeksi HCMV akut yang ditunjukkan dengan hasil serologis IgM+, IgG+ yaitu 16/39 (41.0%), pernah terinfeksi yang ditunjukkan oleh hasil serologis IgM- IgG+ yaitu 19/39 (48.7%), dan tidak pernah terinfeksi HCMV yang ditunjukkan oleh hasil serologis IgM- IgG- yaitu 4/39 (10.3%).

Hasil deteksi infeksi HCMV dengan teknik PCR konvensional pada sampel urin diekstraksi yaitu terdapat 34 (87,2%) pasien dengan hasil PCR HCMV positif dan 5 (12,8%) dengan hasil PCR HCMV negatif, dan dari urin langsung yaitu 19 (48,7%) pasien dengan hasil PCR HCMV positif dan 20 (51,3%) pasien dengan hasil PCR negatif. pada bayi penderita neonatal cholestasis.

Terdapat asosiasi moderate dengan *coeficient contingency* berbeda bermakna dengan nilai 0,4 ($p=0.024$) dan nilai 0.383 ($p=0.0355$) antara hasil pemeriksaan serologis anti HCMV dengan pemeriksaan PCR urin yang diekstraksi dan urin secara langsung tanpa diekstraksi (*direct Urin*) pada bayi penderita cholestasis, secara berurutan. Hal ini menunjukkan bahwa pasien bayi cholestasis akut yang ditunjukkan dengan hasil serologis IgM dan IgG positif menunjukkan bahwa semua pasien mempunyai hasil positif PCR HCMV. Hal yang menarik yaitu hasil pemeriksaan serologis IgM dan IgG negatif, namun hasil PCR Urin positif. hal tersebut mungkin disebabkan karena infeksi HCMV masih pada tahap awal sehingga masih belum diketemukan IgM dan IgG.

Tidak terdapat perbedaan antara indentifikasi infeksi HCMV dengan teknik PCR konvensional dari sampel urin yang diekstraksi dan tidak diekstraksi (*langsung*) pada bayi penderita kolestasis ($P>0.05$). Hasil PCR *direct urin* 100% positif pada sampel dengan hasil PCR dari urin *extract* yang positif, sedangkan hasil PCR *direct urin* 75% negatif pada hasil PCR dari urin ekstrak dengan hasil PCR positif dan 25% negatif pada urin ekstrak dengan hasil PCR negatif. Hal ini menunjukkan bahwa dalam menegakkan diagnosis infeksi HCMV dari sampel urin maka hasil yang lebih tepat jika digunakan sampel dari urin yang diekstraksi.

Kesimpulan. Terdapat asosiasi antara hasil pemeriksaan serologis anti-HCMV dengan hasil pemeriksaan PCR HCMV sampel urin yang diekstraksi dan langsung dari bayi penderita kolestasis. Tidak terdapat perbedaan antara hasil pemeriksaan PCR HCMV sampel urin yang diekstraksi dan langsung dari bayi penderita kolestasis. Hal ini menunjukkan bahwa dalam menegakkan diagnosis infeksi HCMV, teknik PCR bisa mendeteksi infeksi HCMV lebih awal dan sampel urin yang digunakan lebih tepat jika digunakan sampel dari urin yang diekstraksi.

Kata kunci: Human cytomegalovirus, kolestasis, PCR, gen MIE

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan berkah dan rahmatnya sehingga kegiatan penelitian yang berjudul “Deteksi Infeksi *Human Cytomegalovirus* dengan PCR Konvensional dari Spesimen Urin Dibandingkan Pemeriksaan Serologis pada Bayi Penderita Kolestasis” dapat terlaksana dengan baik dan masih akan berlanjut sesuai dengan tahapan penelitian. Kegiatan penelitian ini dibiayai oleh Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Direktorat Riset Dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Penguatan Riset Dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi, Dan Pendidikan Tinggi sesuai dengan dalam skem ‘Penelitian Unggulan Fakultas’. Oleh karena itu kami mengucapkan terima kasih kepada pihak yang telah membantu pelaksanaan kegiatan penelitian ini ini, yaitu:

1. Direktorat Riset Dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Penguatan Riset Dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi, Dan Pendidikan Tinggi
2. Rektor Universitas Airlangga
3. Ketua dan staf LPI Universitas Airlangga
4. Dekan beserta jajaran pimpinan di lingkungan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
5. Ketua Unit Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
6. Ketua Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
7. Ketua dan staf Institute of Tropical Diseases Universitas Airlangga
8. Semua pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini

Kami menyadari bahwa dalam penyusunan laporan ini masih banyak kekurangan, sehingga kami menerima saran untuk menyempurnakan laporan ini. Akhir kata semoga kegiatan pengabdian kepada masyarakat ini dapat memberikan manfaat kepada kita semua.

Surabaya, Oktober 2019

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
RINGKASAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 LatarBelakang	1
1.2 RumusanMasalah	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Kolestasis	5
2.2 <i>Human Cytomegalovirus</i>	7
2.3 Diagnosis <i>Human Cytomegalovirus</i>	11
BAB 3 TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	15
3.1 Tujun Penelitian	15
3.2 Manfaat Penelitian	15
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	16
4.1 Jenis Penelitian.....	16
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian	16
4.3 Waktu dan Tempat Penelitian	17
4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel	17
4.5 Prosedur Penelitian	18
4.6 Analisis Hasil Penelitian	19
4.7 Alur Penelitian.....	20
BAB 5 HASIL PENELITIAN	21
BAB 6 PEMBAHASAN	27
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	33
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN	
Lampiran 1 Susunan Organisasi Tim Pengusul dan Pembagian Tugas	38
Lampiran 2 Draft Luaran Penelitian	39

DAFTAR TABEL

Tabel 1	Karakteristik bayi penderita kolestasis	22
Tabel 2	Hasil deteksi infeksi HCMV secara serologis dari serum dan PCR dari urin	23
Tabel 3	Asosiasi hasil pemeriksaan serologis anti HCMV dengan pemeriksaan PCR urin yang diekstraksi dan langsung pada bayi penderita cholestasis	25
Tabel 4	Hasil uji beda PCR HCMV dari urin yang diekstraksi dengan direct urin	26

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Posisi pita untuk hasil PCR beta Globin CMV first dan second round	24
Gambar 2	Hasil deteksi infeksi HCMV dengan primer MIE4/MIE5 dari specimen biopsi liver	24

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Susunan Organisasi Tim Pengusul dan Pembagian Tugas	38
Lampiran 2	Draft Luaran Penelitian	39

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikhterus adalah suatu kondisi dimana kulit, sklera, membran mukosa, dan tubuh bayi tampak kekuningan. Ini merupakan hal yang sering ditemukan secara klinis pada dua minggu pertama sejak bayi lahir. Biasanya ikhterus ini hilang dengan sendirinya tanpa intervensi. Namun jika ikhterus berlangsung lebih dari dua minggu, maka harus dipertimbangkan sebagai kondisi kolestasis (Feldman AG and Sokol RJ, 2013). Kolestasis biasanya terjadi pada 1 diantara 2.500 bayi yang lahir. Kolestasis didefinisikan sebagai penurunan aliran empedu karena kegagalan sekresi oleh hepatosit atau obstruksi aliran empedu pada saluran empedu intra atau extra hepatic. Diagnosis kolestasis dilakukan berdasarkan pemeriksaan kadar bilirubin terkonjugasi yaitu kadar bilirubin direk atau terkonjugasi lebih besar dari 2 mg/dL ketika bilirubin total kurang dari 5 mg/dL atau lebih dari 20% dari total bilirubin, jika total bilirubin lebih dari 5 mg/dL (Feldman AG and Sokol RJ, 2013, Davis, 2011; Rashed, 2013; Suchy F, 2004). Kondisi kolestasis ini apabila tidak terdeteksi sejak dini dan tidak mendapat terapi yang tepat akan menyebabkan kelainan yang serius sehingga menyebabkan kematian.

Kejadian kolestasis pada masa bayi dikaitkan dengan kelainan kongenital atau infeksi virus. Penyebab infeksi yang paling sering yaitu infeksi *Human cytomegalovirus* (HCMV) (Oliveira, 2002) dengan gejala *jaundice* (62%), *petechiae* (58%) dan hepatosplenomegali (50%) (Leung A, 2003). Diagnosa infeksi HCMV pada bayi dilakukan dengan mengisolasi virus dari urin dengan teknik kultur, serologi darah dengan memeriksa deteksi IgM dan IgM anti HCMV, deteksi Antigen CMV dengan *antigenemia assay* pada sample darah serta mengidentifikasi DNA HCMV dengan teknik *polymerase chain reaction* (PCR) (Bhatia, 2010). Kultur virus merupakan *gold standart* untuk diagnosis HCMV, namun diperlukan waktu

yang lama untuk mendapatkan hasil pemeriksaan. Virus dinikulasi pada sel fibroblas dan pengamatan dilakukan mulai hari 2 sampai 21 hari sejak inokulasi virus ((Ross, 2011). Selain waktu pengamatan yang lama, juga sering kali didapatkan hasil negatif semu jika spesimen diambil pada waktu *viral load* sedang rendah. Saat ini di Indonesia yang paling sering dilakukan untuk mendiagnosis infeksi HCMV adalah dengan pemeriksaan serologis IgM dan IgG anti HCMV dari sampel darah. Pemeriksaan IgM terbentuk 2-4 minggu sejak infeksi, bertahan dan menurun secara cepat dalam 2-4 bulan, dan kemudian tidak terdeteksi dalam waktu 12 bulan dan terbentuk IgG (de Tommaso et al., 2005). Namun pada bayi yang baru lahir, kemampuan untuk membentuk IgM dan IgG masih rendah. Ig G bayi baru lahir diperoleh secara maternal dari ibunya, sedang IgM masih dalam proses pembelajaran untuk mensintesis secara perlahan (Mack, 2015), sehingga pemeriksaan serologis IgM dan IgG antiHCMV pada minggu pertama bayi lahir masih belum bisa mencerminkan kondisi infeksi HCMV pada bayi.

Proses replikasi virus dimulai dari ekspresi gen immediate-early (IE) virus yaitu 2-4 jam setelah infeksi, kemudian sudah terbentuk virion utuh dan sudah sudah menyebar ke seluruh cairan tubuh dalam waktu 48-72 jam post infeksi, sehingga DNA HCMV sudah bisa dideteksi di cairan tubuh pada 48-72 jam post infeksi (Crough, 2009, Muller 2010). DNA HCMV dapat diisolasi dari jaringan tubuh dan cairan tubuh seperti air mata, kelenjar ludah, ASI, urin, tinja, semen, sekresi mulut rahim, cairan ketuban, darah, serta transplantasi organ (Stehel, 2005). Teknik PCR merupakan teknik sensitif untuk mendeteksi HCMV berdasarkan reaksi amplifikasi asam nukleat virus. Deteksi HCMV ini dengan target area yang paling *conserv* yaitu gen *major immediate early* (MIE) dan gen *late antigen* (L) dan spesifitas yang tinggi untuk mendeteksi DNA HCMV. Gen IE sudah terbentuk 2-4 jam post infeksi sehingga bisa melakukan deteksi dini infeksi HCMV (Crough, 2009, Muller 2010). Berdasarkan hal tersebut dimungkinkan untuk bisa mendeteksi DNA HCMV dari cairan tubuh sejak hari ke dua atau ketiga post infeksi dengan teknik PCR.

Bayi dengan infeksi HCMV akan menerima pengobatan anti virus atau imunomodulator. Pemberian imunomodulator dapat meningkatkan imunitas sehingga penderita lebih responsif dalam melawan infeksi. Anti virus yang paling sering digunakan yaitu ganciclovir dan valganciclovir. Pemberian ganciclovir intravena selama enam bulan direkomendasikan untuk terapi pada bayi dengan kongenital HCMV yang simptomatis termasuk kelainan CNS (Swanson, 2013). Ganciclovir (6 mg/kg intravena tiap 12jam) diberikan pada bayi dengan infeksi kongenital CMV. Ganciclovir menghambat DNA virus *polymerase* (Stehel, 2005). Penelitian lain memberikan ganciclovir pada kolestasis neonatal CMV yang berat, menunjukkan peningkatan aminotransferase lebih dari dua kali normal (Vancikova, 2004). Infeksi yang berkelanjutan akan menyebabkan pembentukan fibrosis di sekitar vena porta dan proliferasi duktus empedu sehingga terjadi penyumbatan saluran empedu. Penderita kolestasis yang tidak mendapat pengobatan yang tepat biasanya akan memperparah kondisi pasien sehingga akan cepat meninggal. Berdasarkan hal tersebut maka penentuan diagnosis infeksi HCMV yang cepat akan bermanfaat untuk menurunkan angka kematian akibat kolestasis.

Urin merupakan cairan tubuh yang mudah didapatkan dan tidak invasif pada bayi yang baru lahir. Virus bercampur dengan urin dan debris sel yang terdapat di sepanjang saluran perkemihan. Untuk kepentingan diagnosis maka perlu mempertimbangkan pemanfaatan prosedur ekstraksi DNA atau tidak dalam melakukan PCR HCMV dari spesimen urin karena menghilangkan satu langkah pemeriksaan berarti mengurangi biaya pemeriksaan dan menghemat biaya diagnosis sehingga dalam penelitian ini perlu melakukan optimasi ekstraksi DNA atau langsung PCR dari spesimen urin. Berdasarkan uraian tersebut maka perlu dilakukan penelitian untuk mengungkap korelasi deteksi infeksi HCMV dengan PCR konvensional dengan target gen MIE dan IE HCMV dari spesimen urine yang diekstraksi atau tidak diekstraksi dibandingkan dengan pemeriksaan serologis IgM dan IgG pada bayi penderita kolestasis.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Bagaimanakah hasil deteksi infeksi HCMV dengan PCR konvensional dari spesimen urine yang diekstraksi dan yang tidak diekstraksi pada pasien bayi penderita kolestasis?
2. Bagaimanakah hasil pemeriksaan IgM dan IgG terhadap HCMV pada pasien bayi penderita kolestasis?
3. Apakah terdapat korelasi antara hasil deteksi infeksi HCMV dengan PCR konvensional dari spesimen urine yang diekstraksi dan yang tidak diekstraksi dengan pemeriksaan IgM dan IgG pada pasien bayi penderita kolestasis?

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kolestasis

Kolestasis adalah penurunan atau terhambatnya aliran empedu pada setiap tingkatan ke saluran bilier ekstrahepatik dan duodenum. Gejala utama dari kolestasis adalah ikterus, tinja akholis, dan urin berwarna gelap. Pemeriksaan laboratorium menunjukkan peningkatan bilirubin terkonjugasi. Kolestasis didefinisikan sebagai kadar bilirubin terkonjugasi lebih dari 20% dari kadar bilirubin total jika kadar bilirubin total $> 5\text{mg/dl}$ atau kadar bilirubin direk lebih dari 2mg/dl apabila bilirubin total $< 5\text{mg/dl}$ (Davis, 2011; Rashed, 2013; Suchy F, 2004). Kolestasis merupakan penyebab morbiditas dan mortalitas yang penting pada bayi dan anak. Ketidakmampuan untuk mendeteksi dan memonitor progresifitas kerusakan hati akan menghambat manajemen penyakit dengan kolestasis. Akumulasi dari asam empedu berdampak terjadinya hepatotoksisitas sehingga merupakan penyebab yang mendasari kelainan pada hati (Pereira, 2010; Ramm, 1998).

Penyebab kolestasis terbanyak adalah atresia bilier, infeksi, dan defisiensi α -1 antitripsin (Fischler, 2014). Atresia bilier ekstrahepatik adalah penyakit yang paling sering ditemukan, sekitar sepertiga dari kasus yang dilaporkan. *Inherited* kolestasis sekitar 10%-20%, 10% disebabkan karena defisiensi α -1 antitripsin, 20% karena *inborn errors of metabolism*, dan infeksi kongenital (TORCH) sekitar 5% (Suchy, 2004). Secara garis besar kolestasis dapat diklasifikasikan menjadi kolestasis ekstrahepatik yang merupakan obstruksi mekanis saluran empedu ekstrahepatik dan kolestasis intrahepatik yang disebabkan karena obstruksi saluran empedu intrahepatik dan adanya kelainan hepatosit (Arief, 2004).

Bayi diduga mengalami kolestasis jika *jaundice* tidak menghilang lebih dari usia dua minggu. Gejala kolestasis adalah tinja pucat, urin berwarna gelap, tidak gatal selama masa bayi,

pembesaran hati, terkadang didapatkan splenomegali. Pada pemeriksaan laboratorium didapatkan hiperbilirubin khususnya *conjugated*, peningkatan *γ-glutamyl transferase* serta *alkaline phosphatase*. Pada kolestasis juga didapatkan malabsorpsi vitamin yang larut lemak serta defisiensi vitamin K1, pencetus timbulnya perdarahan. USG abdomen harus dilakukan pada semua bayi dengan kolestasis. Jika didapatkan tinja pucat yang permanen, biopsi hati atau *cholangiography* harus segera dilakukan untuk menyingkirkan atau mengkonfirmasi atresia bilier (Girard, 2008).

Biopsi hati perkutan adalah salah satu diagnostik tes yang sangat penting untuk mengevaluasi kolestasis pada bayi. Pada beberapa penelitian, atresia bilier dapat didiagnosa pada 90%-95% kasus. Gambaran histopatologi yang sering ditemukan pada biopsi hati adalah proliferasi duktus bilier, bile plugs, fibrosis saluran portal dan edema. Selain itu pada biopsi hati juga bisa didapatkan gambaran hepatitis, infeksi virus seperti CMV atau *herpes simplex* atau perubahan yang diduga karena penyakit metabolik (Suchy F, 2004). Penelitian di India tahun 2008, biopsi hati perkutan memiliki akurasi tinggi (88.2%) untuk mendiagnosa atresia bilier (Rastogi, 2008). Penelitian di India tahun 2009 menyimpulkan bahwa biopsi hati merupakan metode terbaik untuk membedakan neonatal hepatitis dari atresia bilier (Poddar, 2009).

Pada penderita yang diduga kolestasis, langkah pertama yang sangat penting untuk dilakukan adalah mengevaluasi warna tinja pasien. Jika didapatkan tinja akholik, diagnosa atresia bilier harus ditegakkan atau disingkirkan. Jika tidak didapatkan tinja pucat tapi tidak akholik, pemeriksaan laboratorium atau biopsi hati dapat dilakukan untuk menegakkan diagnosa (Girard, 2008).

Penanganan yang adekuat pada penderita kolestasis sangat penting untuk menghindari komplikasi. Pada kolestasis didapatkan kegagalan penyerapan lemak karena tidak adanya empedu dalam usus. Kegagalan penyerapan lemak dapat mengakibatkan perdarahan

(kekurangan vitamin K), *rickets* (kekurangan vitamin D), *neuropathy* (kekurangan vitamin E) dan gangguan penglihatan (kekurangan vitamin A). Pemberian vitamin yang larut dalam lemak diberikan secara oral dalam dosis yang besar selama kolestasis tidak berat dan kadar vitamin A, E dan D dimonitor secara teratur. Jika kolestasisnya berat atau dengan pemberian terapi oral responnya tidak bagus, injeksi parenteral dapat diberikan (Girard, 2008).

Kegagalan penyerapan lemak kemungkinan dapat mengakibatkan gagal tumbuh pada penderita kolestasis. Pemberian susu formula yang diperkaya dengan *medium-chain triglycerides* dapat memperbaiki penyerapan lemak serta meningkatkan nutrisi. Penderita kolestasis pada *infant*, bisa diberikan 180-200 kalori/kg/hari serta *feeding enteral* untuk mempertahankan pertumbuhan (Girard, 2008). Pemberian asam *ursodeoxycholic* (*a hydrophilic bile acid*) sangat bermanfaat pada penderita kolestasis, dapat memperbaiki parameter *biochemical* serta mengontrol progresifitas fibrosis. Efek samping pemberian adalah diare, dosis yang dianjurkan adalah 20mg/kg/hari. Pada penderita kolestasis dapat dijumpai gejala *pruritus*, bisa diberikan rifampicin 5-20mg/kg/hari. Mekanisme belum jelas tetapi kemungkinan menghambat penyerapan empedu serta menginduksi enzim mikrosomal (Girard, 2008).

2.2 *Human Cytomegalovirus*

Cytomegalovirus atau *human cytomegalovirus* (HCMV) termasuk dalam *beta human herpesvirus type 5*. Dibandingkan dengan *human herpesvirus* yang lain, HCMV paling besar, dengan genom 235kb encoding 165 gene. Virion terdiri dari *double-stranded linear* DNA inti dalam *icosahedral nucleocapsid*, dilindungi oleh *proteinaceous matrix* (gambar 2.5) (Crough, 2009).

CMV masuk ke dalam sel dengan cara endositik, virus akan terikat dengan sel melalui interaksi antar sel dengan glikoprotein virus (gB dan gH) dan terikat pada reseptor spesifik

yang ada di permukaan sel inang (*platelet-derived growth factor α*). Kemudian virus menembus membran sel, selubung virus terlepas, dan nucleocapsid masuk ke sitoplasma sel. Nucleocapsid menuju inti sel serta melepaskan DNA ke dalam inti sel. Kemudian terjadi inisiasi dari ekspresi gen IE-1 dan IE-2 yang menstimulasi terjadinya replikasi dan maturasi DNA virus. Proses maturasi membentuk capsid kembali dan akan ditransportasikan keluar inti sel menuju sitoplasma. Di dalam sitoplasma akan terjadi pembentukan selubung virus lagi oleh retikulum endoplasma dan badan golgi. Selanjutnya akan terbentuk virion CMV dan dilepaskan keluar sel melalui proses eksositosis. Siklus replikasi HCMV termasuk lambat, keseluruhan proses replikasi memerlukan waktu 48-72jam (Crough, 2009).

Infeksi CMV pada janin dan bayi merupakan masalah kesehatan yang penting di seluruh dunia. Di United States, CMV merupakan infeksi kongenital oleh virus yang paling sering ditemukan, sekitar 0,2%-2,5% dari seluruh kelahiran hidup. Infeksi oleh CMV ada dimanamana, bisa terjadi pada semua populasi serta semua tingkat sosioekonomi setiap tahun tanpa dipengaruhi musim. CMV dapat diisolasi dari jaringan tubuh dan cairan tubuh seperti air mata, kelenjar ludah, ASI, urin, tinja, semen, sekresi mulut rahim, cairan ketuban, darah, serta transplantasi organ (Stehel, 2005). Gejala yang ditimbulkan dari infeksi kongenital pada masa bayi adalah mikrocephali (70%), penurunan nilai intelektual (60%), tuli (35%), korioretinitis (22%), hepatosplenomegali (70%), *jaundice* (68%), trombositopeni (65%), berat badan lahir rendah (65%), *pneumonitis* (2-5%) serta kelainan jantung (<5%) (Bhatia, 2010). CMV diduga sebagai salah satu penyebab kolestasis, sekitar 1%-2,4% infeksi CMV pada bayi baru lahir di Amerika Utara (Oliveira, 2002). Prevalensi CMV pada penderita kolestasis intrahepatik pada masa bayi berkisar (5%-46%) tergantung dari metode diagnostik yang digunakan (Brandao, 2009). Penelitian di China pada 85 penderita neonatal kolestasis setelah operasi Kasai portoenterostomi didapatkan 65% DNA CMV pada spesimen biopsi jaringan duktus biliaris

(Xu Y, 2012). Penelitian di Brasil tahun 2001 menunjukkan prevalensi infeksi CMV tinggi pada satu tahun pertama kehidupan (Almeida, 2001).

CMV dapat ditularkan ke janin atau bayi karena infeksi primer ibu, rekurens atau reaktivasi infeksi, atau reinfeksi dengan strain CMV yang berbeda yang sebelumnya sudah pernah menginfeksi ibu. Berdasarkan waktu terjadinya infeksi CMV pada janin atau bayi, penularan CMV terbagi menjadi masa prenatal, natal atau post natal (Stehel, 2005).

Infeksi prenatal atau infeksi kongenital terjadi didalam rahim melalui *transplacental*, penyebaran secara hematogen selama proses viremia pada ibu. Infeksi pada janin bisa terjadi dan bertambah berat setelah infeksi primer pada ibu kemudian setelah reaktivasi infeksi laten dari ibu. Insiden infeksi CMV primer yang didapat selama kehamilan berkisar 1%-4% dan resiko kejadian infeksi kongenital sebesar 40%. Sekitar 10%-15% bayi yang terinfeksi CMV menunjukkan gejala klinis/simptomatis (Stehel, 2005).

Infeksi perinatal atau natal terjadi melalui dua cara yaitu sekret vagina dan air susu yang mengandung virus CMV. Infeksi perinatal lebih sering terjadi dibandingkan infeksi kongenital, sumber infeksi utama adalah kontak dengan sekret vagina selama persalinan serta melalui air susu (Leila, 2002). Sekitar 2%-28% wanita hamil yang positif CMV pada cairan mulut rahim atau cairan vagina selama proses kelahiran. Sekitar 50% bayi yang terpapar menjadi terinfeksi CMV serta menunjukkan gejala klinis saat usia empat sampai enam minggu (Stehel, 2005).

Infeksi CMV pada post natal yaitu terjadi penularan CMV ibu ke bayi terjadi selama masa menyusui karena 9%-88% wanita positif CMV pada air susu ibu. Sekitar 50%-60% bayi yang mendapatkan ASI yang mengandung CMV menjadi terinfeksi (Stehel, 2005). Kejadian kolestasis neonatal melalui transmisi postnatal lebih jarang dibandingkan melalui transmisi yang lain, sekitar 10% melalui transfusi darah yang terinfeksi (Kim, 2010; Fischer 2010).

Interaksi antara sistem imun inang dengan CMV merupakan interaksi yang kompleks karena virus tidak hanya menyebabkan supresi dari sistem imun inang namun juga aktivasi.

Selain itu mekanisme respons imun inang berupaya mengendalikan replikasi virus, sementara virus juga melakukan berbagai macam upaya supaya dapat menghindari respons imun tersebut (Griffiths, 1987). Meskipun resiko infeksi CMV dapat menular ke janin dan bayi, tapi apakah bayi tersebut memiliki gejala yang asimtomatis atau berkembang menjadi gejala yang lebih berat, mekanismenya belum jelas. Perlindungan imun terhadap infeksi kongenital CMV adalah kompleks serta membutuhkan pertimbangan respon imun dari ibu, janin dan plasenta (gambar 2.7) (Schleiss, 2013).

CD4⁺ dan CD8⁺ masih intak selama kehamilan, didapatkan perubahan dalam keseimbangan sitokin Th1/Th2, NK sel serta peningkatan Treg. Lingkungan mikro pada uterus saat kehamilan memainkan peran dalam ekstensi lokal langsung dari paparan virus CMV atau reaktivasi serta sebagian didorong oleh peningkatan IL 10. Faktor yang meningkatkan transmisi penularan adalah potensi pembunuhan kurang efisien dari NK sel, penurunan sitokin seperti IL-12 dan IF- γ serta potensi translokasi CMV di *syncytiotrophoblast* jika aviditas IgG rendah. Sel CD8⁺, serta sel T gammadelta berkontribusi sebagai kekebalan antivirus dalam lingkungan imun janin (Schleiss, 2013).

Terapi pada infeksi kongenital CMV dengan antivirus diberikan pada bayi jika didapatkan gangguan central nervous system (CNS), sensorineural hearing loss (SNHL) serta bayi yang disertai kelainan organ serius (hepatitis, pneumonia, trombositopeni). Terapi antivirus yang diberikan adalah ganciclovir. Ganciclovir adalah sintetik *acyclic nucleoside analog*, struktur mirip dengan *guanine*. Pemberian ganciclovir intravena selama enam bulan direkomendasikan untuk terapi pada bayi dengan kongenital CMV yang simptomatis termasuk kelainan CNS (Swanson, 2013). Ganciclovir (6mg/kg intravena tiap 12jam) diberikan pada bayi dengan infeksi kongenital CMV. Ganciclovir menghambat DNA virus *polymerase*. Efek samping yang sering didapatkan pada bayi adalah netropeni, sekitar 60% (Stehel, 2005). Penelitian lain memberikan ganciclovir pada kolestasis neonatal CMV yang berat,

menunjukkan peningkatan aminotransferase lebih dari dua kali normal (Vancikova, 2004). Para ahli sepakat bahwa terapi ganciclovir diberikan pada penderita kolestasis neonatal yang progresif, persisten serta tidak membaik dengan terapi konvensional (Oliveira, 2002; Tezer, 2008).

2.3 **Diagnosis *Human Cytomegalovirus***

Diagnosa infeksi CMV pada bayi tergantung adanya virus, yang dapat diisolasi di urin (teknik kultur), deteksi IgM pada darah (serologi tes), deteksi antigen CMV (*antigenemia assay*) pada sampel darah serta identifikasi CMV-DNA pada sampel dengan teknik PCR (Bhatia, 2010).

Diagnosis definitif neonatal kolestasis dengan laparotomi serta kolangiogram perioperative. Tidak ada satu pemeriksaan tunggal yang 100% akurat dalam mendiagnosa pasti adanya kolestasis (Poddar, 2009).

Tes serologi sangat berguna untuk menentukan apakah penderita mengalami infeksi CMV pada masa lampau, dengan melihat ada atau tidak ada IgG CMV. Deteksi antibodi IgM digunakan sebagai indikator adanya infeksi akut atau infeksi baru (Ross, 2011). Pemeriksaan serologi adalah untuk mendeteksi reaksi antigen-antibodi, bisa menggunakan antibodi tertentu untuk mendeteksi antigen yang sesuai dengan agen infeksi atau sebaliknya menggunakan antigen untuk mendeteksi antibodi spesifik. Pemeriksaan serologi pada CMV ditujukan untuk mendeteksi adanya antibodi spesifik anti CMV pada serum (James 1990).

Perkembangan metode pemeriksaan serologi terus meningkat. Para ahli berusaha menemukan metode untuk dapat mendeteksi antigen atau antibodi secara lebih spesifik. Pada tahun 1960an dikenalkan metode pelabelan antigen atau antibodi spesifik dengan zat tertentu, yaitu dengan molekul fluorescens, zat radioaktif serta enzim. Metode pelabelan dengan enzim disebut *enzyme immunoassay* (EIA). Variasi dari EIA adalah metode *enzyme-linked*

immunosorbent assay (ELISA). Metode ELISA dapat digunakan untuk mendeteksi antigen spesifik (disebut *direct* ELISA) atau antibodi spesifik (disebut *indirect* ELISA). Saat ini metode pemeriksaan serologi yang banyak digunakan untuk diagnosis serologi CMV adalah ELISA (Lequin, 2005). Metode ini dapat mendeteksi adanya antibodi IgM dan IgG spesifik anti CMV dalam sirkulasi (Gehrz, 1982; Sinclair, 2006). Serologi memiliki akurasi yang rendah (59%) untuk mendeteksi infeksi HCMV aktif dengan sensitivitas dan spesifisitas, 54% dan 61% (Tomasso, 2005).

Penelitian di Indonesia menunjukkan pemeriksaan serologi IgM anti CMV dengan klinis mempunyai akurasi tinggi pada diagnosis hepatitis neonatal *cytomegalovirus* dengan nilai sensitifitas 100% dan spesifisitas 83,3% (Angelika, 2012). Penelitian di polandia pada 9 anak dengan kolestasis, semua anak positif IgG anti CMV, 4 anak positif IgM anti CMV (Pawlowska, 2010). Pada penelitian di brasil yang melibatkan 101 pasien dengan intrahepatik kolestasis, dibandingkan dengan PCR, pemeriksaan serologi dalam mendeteksi infeksi CMV memiliki akurasi tinggi (82,35%), spesifik (88,89%), tingginya nilai prediksi negatif (90,01%), sensitifitasnya (33,3%) dan nilai prediksi positif (28,75%) (Brandao, 2009). Penelitian yang dilakukan di brasil tahun 2002 yang melibatkan 76 pasien dengan kolestasis, pada kelompok intrahepatik kolestasis yang positif serologi sebesar 29,4% dan pada kelompok ekstrahepatik kolestasis sebesar 28,5% (Oliveira, 2002). Penelitian di *Egypt* yang melibatkan 94 pasien dengan atresia bilier dan 91 pasien kolestasis neonatal karena penyebab yang lain (non atresia bilier), frekuensi IgM CMV pada pasien atresia bilier 4,3% dan non atresia bilier 20,9% (Sira, 2016).

Pemeriksaan PCR merupakan metode untuk mendeteksi virologik yang berguna dalam menegakkan diagnosa penyakit virus karena kemampuan untuk mendeteksi DNA virus bahkan dalam jumlah yang sangat minimal. Bahan yang digunakan untuk pemeriksaan PCR antara lain urin, darah, air ludah, cairan liquor, cairan amnion, dan jaringan (Soetens, 2008; Goegebuer,

2009). Replikasi virus CMV sangat sedikit pada jaringan hati yang terinfeksi, PCR dapat mengamplifikasi DNA CMV hingga 10^5 . Pemeriksaan PCR dibagi dua yaitu kualitatif dan kuantitatif. Pada PCR kualitatif hanya ditentukan adanya DNA virus tanpa metode kuantitatif. Sedangkan PCR kuantitatif, menentukan adanya produk DNA dari virus dengan metode kuantitatif (Zhang, 2010; Lanari, 2006).

Sensitivitas dan spesifisitas PCR lebih tinggi dibandingkan dengan antigenemia, sensitivitas dapat mencapai 100%, spesifisitas 72-90%, nilai prediksi positif 69-90%, serta nilai prediksi negatif 100% (Bhatia, 2010; Bopanna, 2011; Lazzarotto, 1998). Chang dkk tahun 1992, melakukan pemeriksaan PCR CMV jaringan hati pada bayi dengan kolestasis neonatal, 23 (46%) diantaranya positif DNA CMV. Pada penelitian ini, DNA CMV tidak didapatkan pada jaringan hati pasien yang tidak menderita kolestasis, sehingga spesifisitas PCR tinggi dalam mendiagnosa CMV pada kolestasis (Chang, 1992). Penelitian di Brasil pada pasien dengan ekstrahepatik kolestasis, dari 33 sampel biopsi hati yang diperiksa PCR CMV, positif HCMV DNA 27,3% (Tomasso, 2005). Penelitian di *Egypt* yang melibatkan 94 pasien dengan atresia bilier dan 91 pasien kolestasis neonatal karena penyebab yang lain (non atresia bilier), frekuensi CMV DNA dengan pemeriksaan PCR biopsi hati pada penderita atresia bilier 5,3%, non atresia bilier 23% (Sira, 2016). Penelitian di Taiwan pada 50 penderita dengan neonatal hepatitis, 46% positif CMV pada jaringan hati dengan pemeriksaan PCR (Chang, 1992). Penelitian di Sweden pada pasien kolestasis pada *infant*, dari 18 sample jaringan hati penderita dengan atresia bilier, 50% positif DNA CMV dengan PCR serta 7 sample jaringan hati penderita dengan kolestasis intrahepatik, 3 positif DNA CMV (Fischler, 1998).

Kultur virus merupakan baku emas dari diagnosis CMV. Ada dua metode yaitu *cell culture* (CC) atau metode konvensional dan *shell vial assay* (SVA). Pada metode konvensional, spesimen diinokulasikan pada sel fibroblast manusia serta diinkubasi dan diamati selama 2-21 hari. Metode SVA adalah kultur virus yang dimodifikasi dengan

menggunakan teknik *centrifugation-amplification* bisa mengurangi lamanya waktu yang dibutuhkan untuk mendeteksi virus secara cepat (Ross, 2011). Penelitian yang dilakukan di Amerika tahun 1993, teknik kultur dengan sentrifuge memiliki sensitivitas 41% dan spesifisitas 99% (Landry, 1993).

Uji antigenemia telah umum digunakan selama lebih dari satu dekade untuk kuantifikasi virus CMV dalam spesimen darah. Pemeriksaan antigenemia tergantung antibodi monoclonal untuk mendeteksi antigen virus pp65, yang diekspresikan pada lekosit darah selama fase awal dari siklus replikasi CMV. Uji antigenemia tidak hanya memberikan hasil kualitatif tetapi juga kuantitatif, sangat erat berhubungan dengan viremia dan beratnya penyakit pada populasi yang imunokompromais (Ross, 2011). Penelitian di Amerika November 2006 sampai januari 2007 menunjukkan sensitivitas, spesifisitas, nilai prediksi positif dan nilai prediksi negatif antigenemia yaitu 76%, 99%, 95% dan 96% (LaSala, 2009). Hasil pemeriksaan antigenemia menjadi negatif palsu pada pasien dengan netropeni berat, karena tes antigenemia tergantung pada jumlah polimorfonuklear yang cukup (Ross, 2011).

Pemeriksaan immunohistochemistry dilakukan khususnya pada jaringan atau sampel cairan tubuh. Slide dibuat dari potongan jaringan biopsi (hati, paru) yang dibekukan atau dengan melakukan sentrifuge pada sel. Slide diperiksa dengan *fluorescent* atau *light microscopy*. Teknik ini lebih sensitif dan sangat spesifik, tetapi membutuhkan tenaga yang ahli untuk membaca slide (Ross, 2011). Penelitian yang dilakukan di Thailand menunjukkan immunochemistry untuk mendeteksi secara cepat adanya virus CMV pada penderita kongenital CMV memiliki sensitivitas 60% dan spesifisitas 97% (Amarapal, 1991).

BAB 3

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

Tujuan umum penelitian ini adalah mengetahui korelasi deteksi infeksi HCMV dengan PCR konvensional dari spesimen urine yang diekstraksi dan yang tidak diekstraksi dibandingkan dengan pemeriksaan serologis pada bayi penderita kolestasis.

Tujuan khusus penelitian ini adalah:

1. Mengetahui hasil deteksi infeksi HCMV dengan PCR konvensional dari spesimen urine yang diekstraksi dan yang tidak diekstraksi pada pasien bayi penderita kolestasis.
2. Mengetahui hasil pemeriksaan IgM dan IgG terhadap HCMV pada pasien bayi penderita kolestasis.
3. Mengetahui korelasi antara hasil deteksi infeksi HCMV dengan PCR konvensional dari spesimen urine yang diekstraksi dan yang tidak diekstraksi dengan pemeriksaan IgM dan IgG pada pasien bayi penderita kolestasis.

3.2 Manfaat Penelitian

Manfaat teoritis penelitian ini adalah untuk mendapatkan informasi ilmiah tentang korelasi antara hasil pemeriksaan PCR konvensional dari spesimen urine yang diekstraksi dan yang tidak diekstraksi dengan pemeriksaan IgM dan IgG pada pasien anak dengan kolestasis.

Manfaat praktis penelitian ini adalah diharapkan hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai landasan teoritis untuk menggunakan pemeriksaan PCR dari spesimen urin sebagai prosedur rutin dalam upaya menegakkan diagnosis infeksi CMV pada pasien bayi penderita kolestasis.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *observasional discriptive* dengan pendekatan *cross sectional* yang bertujuan untuk mengetahui korelasi deteksi infeksi HCMV dengan PCR konvensional dari spesimen urine dibandingkan dengan pemeriksaan serologis pada bayi penderita kolestasis.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi pada penelitian adalah semua penderita kolestasis pada bayi yang dirawat di bagian Instalasi Rawat Inap Anak Departemen Ilmu Kesehatan Anak, RSUD Dr Soetomo Surabaya.

Sampel penelitian adalah urin dari bayi penderita kolestasis yang berusia 1– 12 bulan dan dirawat di bagian Instalasi Rawat Inap Ilmu Kesehatan Anak RSUD Dr. Soetomo, Surabaya, yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi yaitu bayi penderita kolestasis yang usia 1-12 bulan. Kriteria eksklusi yaitu pasien yang sudah menerima terapi antivirus, pasien HIV, pasien tuberkulosis milier, pasien gizi buruk, riwayat menggunakan obat immunosupresi seperti kortikosteroid dan sitostatik, trombosit < 80.000 mg/dl, faal Hemostasis memanjang, dan ascites.

Penelitian ini telah mendapatkan etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan, RSUD Dr Soetomo Surabaya. Subyek penelitian yang bersedia ikut dalam kegiatan penelitian ini, harus mendapatkan persetujuan dari orang tua atau wali dengan menandatangani surat persetujuan tertulis setelah menerima penjelasan *informed consent*. Sampel dikumpulkan dengan teknik *constitutive sampling* yaitu semua bayi penderita kolestasis yang memenuhi kriteria inklusi

selama 5 (lima) bulan. Saat ini telah dikumpulkan sebanyak 50 spesimen urin dari pasien bayi penderita kolestasis. Spesimen dikumpulkan mulai bulan Agustus sampai Desember 2018. Spesimen disimpan di Lembaga Penyakit tropis Universitas Airlangga pada suhu -20°C sampai akan digunakan untuk penelitian.

4.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Instalasi Rawat Inap Anak Departemen Ilmu Kesehatan Anak, RSUD Dr Soetomo Surabaya dan Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga. Penelitian dilakukan selama 8 (delapan) bulan.

4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel

Variabel pada penelitian ini yaitu kadar IgG HCMV, IgMH CMV, dan PCR HCMV.

Kadar IgM HCMV yaitu kadar antibodi immunoglobulin M (IgM) terhadap antigen HCMV yang diperiksa dengan pemeriksaan *Enzyme Linked Fluorescent Assay* (ELISA) di Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr Soetomo Surabaya menggunakan *solid phase receptable* dari VIDAS. Interpretasi IgM yaitu unit indeks IgM $<0,7$ negatif, $\leq 0,7 - 0,9$ equivocal, $\geq 0,9$ positif.

Kadar IgG HCMV yaitu kadar antibodi immunoglobulin G (IgG) terhadap antigen HCMV yang diperiksa dengan pemeriksaan *Enzyme Linked Fluorescent Assay* (ELISA) di Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr Soetomo Surabaya menggunakan *solid phase receptable* dari VIDAS. Interpretasi Ig G yaitu unit indeks IgG <4 negatif, $\geq 4 - <6$ equivokal, ≥ 6 positif.

PCR HCMV adalah hasil PCR konvensional HCMV dengan primer MIE4: 5'-CCA AGC GGC CTC TGA TAA CCA AGC C-3' dan MIE5: 5'-CAG CAC CAT CCT CCT CTT CCT CTG G-3' pada first round PCR dengan produk 435bp dan pasangan primer IE1: 5'- CCA

CCC GTG GTG CCA GCT CC-3' dan IE2: 5'-CCC GCT CCT CCT GAG GAC CC-3' untuk second round PCR dengan produk 161bp.

Kolestasis adalah bayi yang memiliki gejala ikterus dengan kadar bilirubin terkonjugasi 20% dari kadar bilirubin total, apabila bilirubin total $\geq 5\text{mg/dL}$ atau kadar bilirubin direk $>2\text{ mg/dL}$ apabila bilirubin total $<5\text{mg/dL}$.

4.5 Prosedur Penelitian

Hal yang dilakukan pada penelitian yaitu mengajukan etik penelitian, mengumpulkan sampel, mengumpulkan data Ig M dan IgG HCMV, PCR HCMV.

Etik penelitian diajukan kepada Komisi Etik Penelitian Kesehatan, RSUD Dr Soetomo Surabaya. Subyek penelitian yang bersedia ikut dalam kegiatan penelitian ini, harus mendapatkan persetujuan dari orang tua atau wali dengan menandatangani surat persetujuan tertulis setelah menerima penjelasan *informed consent*. Sampel dikumpulkan dengan teknik *constitutive sampling* yaitu semua bayi penderita kolestasis yang memenuhi kriteria inklusi selama 5 (lima) bulan.

Data IgG dan Ig M HCMV adalah data hasil pemeriksaan Ig M dan Ig G HCMV di Instalasi Patologi Klinik RSUD Dr Soetomo. IgM dan IgG diperiksa dengan ELISA menggunakan *solid phase receptable* dari VIDAS dengan interpretasi hasil IgM yaitu unit indeks IgM $<0,7$ negatif, $\leq 0,7 - 0,9$ equivocal, $\geq 0,9$ positif dan Ig G yaitu unit indeks IgG <4 negatif, $\geq 4 - <6$ equivokal, ≥ 6 positif.

Deteksi HCMV dilakukan dengan teknik PCR konvensional menggunakan sampel urin yang diperoleh dari bayi penderita kolestasis. Urin dikumpulkan dengan tabung koleksi secara steril kemudian dibawa ke Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga untuk digunakan PCR.

Deteksi HCMV pada penelitian ini dilakukan secara langsung dari sampel urin tanpa diekstraksi dan sampel urin yang diekstraksi dulu. Sebanyak 200 µl urin digunakan untuk ekstraksi virus menggunakan QAmp DNA Mini Kit (Qiagen) untuk mendapatkan total DNA HCMV yang akan digunakan sebagai template PCR, prosedur ekstraksi DNA CMV dilakukan sesuai dengan protokol dalam kit tersebut dan sekitar 3 µl urin langsung digunakan untuk PCR.

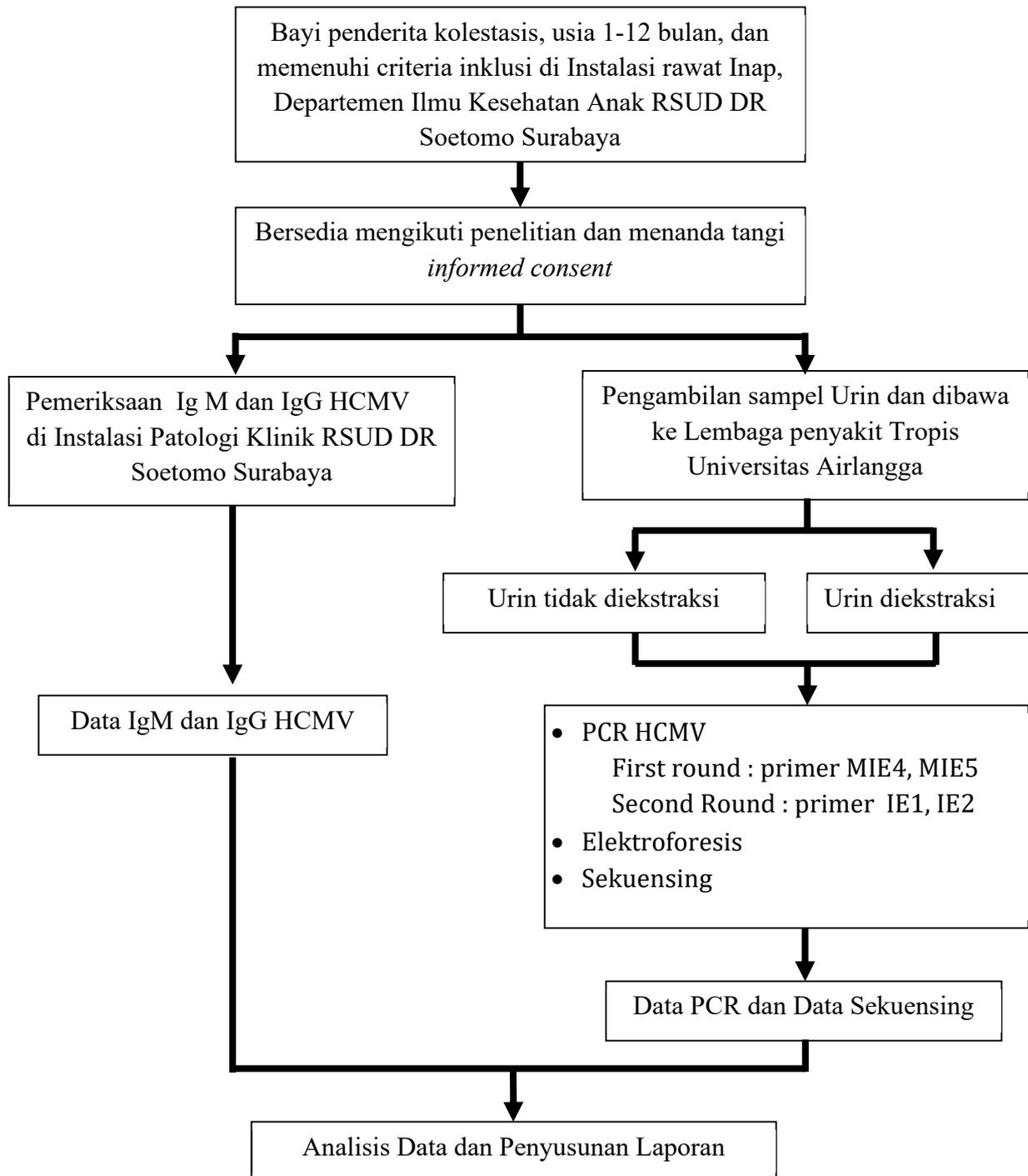
Master mix reaksi untuk PCR *first round* yaitu 10 µl mastermix PCR (Promega), 1 µl *primer forward* MIE4, 1 µl *primer reverse* MIE5, 6 µl ddH₂O, dan 3 µl DNA *template*. Kondisi PCR yaitu pre denaturasi 94°C selama 5 menit, denaturasi 94°C selama 30 detik, penempelan primer 55°C selama 30 detik, elongasi 72°C selama 45 detik. Siklus PCR 40 x. *Final extension* 72°C selama 7 menit. Kondisi PCR dan master mix PCR untuk *second round* PCR yaitu sama dengan *first round* PCR tapi template sebanyak 1 µl produk PCR *first round*.

Hasil PCR dielektroforesis pada gel ekrilamid 2% dan didokumentasikan. Hasil PCR yang positif pada *first round* PCR kemudian dipurifikasi dan digunakan untuk sekuensing DNA. Hasil sekuensing dianalisis dengan analisis Bioinformatika.

4.6 Analisis Hasil Penelitian

Data yang terkumpul dianalisis secara statistik dan analisis bioinformatika, kemudian ditampilkan dalam bentuk gambar, grafik, dan tabel.

4.7 Alur Penelitian



BAB 5

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian *observasional discriptive* dengan pendekatan *cross sectional* yang bertujuan untuk mengetahui korelasi deteksi infeksi HCMV dengan PCR konvensional dari spesimen urin dibandingkan dengan pemeriksaan serologis pada bayi penderita kolestasis.

Sampel penelitian adalah urin dari bayi penderita kolestasis yang berusia 1– 12 bulan dan dirawat di bagian Instalasi Rawat Inap Ilmu Kesehatan Anak RSUD Dr. Soetomo, Surabaya, yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi yaitu bayi penderita kolestasis yang usia 1-12 bulan. Kriteria eksklusi yaitu pasien yang sudah meneima terapi antivirus, pasien HIV, pasien tuberculosis milier, pasien gizi buruk, riwayat menggunakan obat immunosupresi seperti kortikosteroid dan sitostatik, trombosit < 80.000 mg/dl, faal Hemostasis memanjang, dan ascites.

Penelitian ini telah mendapatkan etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan, RSUD Dr Soetomo Surabaya. Subyek penelitian yang bersedia ikut dalam kegiatan penelitian ini, harus mendapatkan persetujuan dari orang tua atau wali dengan menandatangani surat persetujuan tertulis setelah menerima penjelasan *informed consent*. Sampel dikumpulan dengan teknik *constitutive sampling* yaitu semua bayi penderita kolestasis yang memenuhi kriteri inklusi selama 5 (lima) bulan. Saat ini telah dikumpulkan sebanyak 50 spesimen urin dari pasien bayi penderita kolestasis. Spesimen dikumpulkan mulai bulan Agustus sampai Desember 2018. Spesimen disimpan di Lembaga Penyakit tropis Universitas Airlangga pada suhu -20⁰C sampai akan digunakan untuk penelitian, namun hanya terdapat 37 pasien dengan data yang lengkap dan bias digunakan pada penelitian ini.

5.1 Karakteristik Pasien

Kolestasis adalah bayi yang memiliki gejala ikterus dengan kadar bilirubin terkonjugasi 20% dari kadar bilirubin total, apabila bilirubin total $\geq 5\text{mg/dL}$ atau kadar bilirubin direk $>2\text{ mg/dL}$ apabila bilirubin total $<5\text{mg/dL}$. Bayi penderita kolestasis pada penelitian sebanyak 39 bayi penderita cholestasis, yang terdiri dari 17 bayi laki-laki dan 22 bayi wanita, berusia antara 1-12 bulan dengan (mean \pm SD = $3,44 \pm 2,326$). Pasien terdiri dari 32 berusia dibawah 4 bulan dan 7 pasien berusia diatas 5 bulan. Kadar *direct/conjugated bilirubin* (D Bil) adalah 8.1221 ± 4.15911 (mean \pm SD) dan *total bilirubin* (T Bil) adalah 11.1603 ± 5.54247 (mean \pm SD) (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik bayi penderita kolestasis

Karakteristik	
Age (mean \pm SD)	3,44 \pm 2,326
Age (n / %)	
1-2 month	18 (46.1 %)
3-4 month	14 (35.9%)
5-6 month	3 (7.7%)
>6 month	4 (10.3%)
Sex (n / %)	
Male	22 (56.4%)
Female	17 (43.6%)
Bilirubin index (mean \pm SD)	
D Bil	8.1221 \pm 4.15911
T Bil	11.1603 \pm 5.54247
Type Cholestasis n (%)	
Intrahepatic	23 (59%)
Extrahepatic	16 (41%)

Berdasarkan nama pasien dan nomer registrasi pasien tersebut kemudian dilakukan penelusuran data hasil pemeriksaan serologis berupa IgG dan IgM di Departemen Patologi Klinik Anatomi Rumah Sakit Umum Dr. Soetomo. Kadar IgM dan IgG HCMV diperoleh dari *The VIDAS CMV IgM and IgG Assay* (Biomerieux). Intepretasi IgM yaitu unit

indeks IgM <0,7 negatif, ≤0,7 -0,9 equivocal, ≥ 0,9 positif. Interpretasi IgG yaitu unit indeks IgG <4 negatif, ≥ 4-<6 equivokal, ≥ 6 positif. Hasil pemeriksaan serologis menunjukkan bahwa 16/39 (41.0%) pasien positif IgM dan 35/39 (89.7%) pasien positif IgG. Hasil pemeriksaan serologi yang menunjukkan infeksi HCMV akut yang ditunjukkan dengan hasil serologis IgM+, IgG+ yaitu 16/39 (41.0%), pernah terinfeksi yang ditunjukkan oleh hasil serologis IgM- IgG+ yaitu 19/39 (48.7%), dan tidak pernah terinfeksi HCMV yang ditunjukkan oleh hasil serologis IgM- IgG- yaitu 4/39 (10.3%) (Tabel 2).

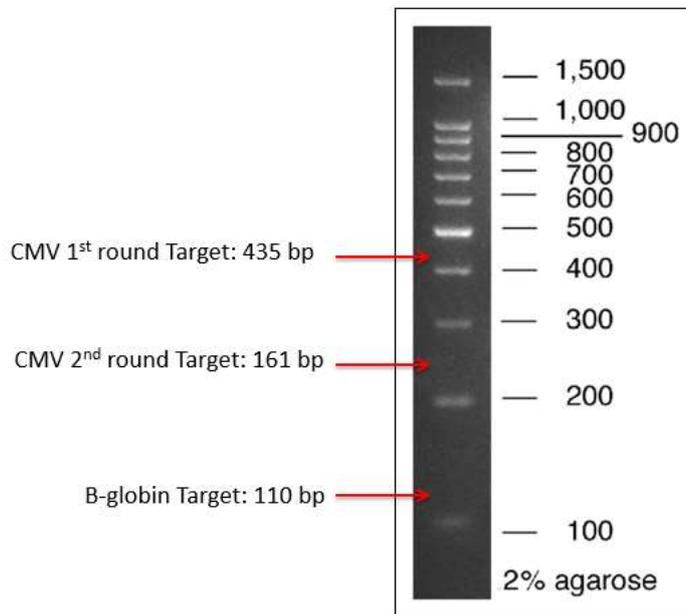
Tabel 2. Hasil deteksi infeksi HCMV secara serologis dari serum dan PCR dari urin

		n	Persentase
Serologis	IgM+	16	41.0%
	IgG+	35	89.7%
	IgM+, IgG+	16	41.0%
	IgM-, IgG+	19	48.7%
	IgM-, IgG-	4	10.3%
PCR Urin	Positif	34	87,2%
	Negatif	5	12,8%
PCR Direct Urin	Positif	19	48,7%
	Negatif	20	51,3%

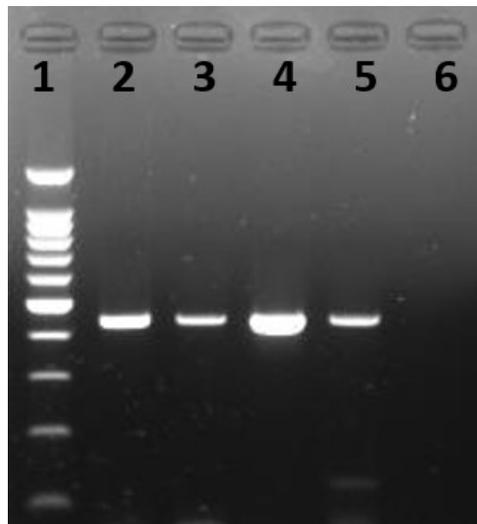
Urin dikumpulkan dengan tabung koleksi secara steril kemudian dibawa ke Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga untuk digunakan PCR. Deteksi HCMV pada penelitian ini dilakukan secara langsung dari sampel urin tanpa diekstraksi dan sampel urin yang diekstraksi dulu. Ekstraksi DNA HCMV dilakukan menggunakan Qamp DNA Mini Kit (Qiagen) sesuai dengan protokol kemudian dilanjutkan dengan PCR.

Identifikasi infeksi HCMV dilakukan dengan teknik PCR konvensional. PCR dilakukan secara nested PCR yaitu putaran pertama menggunakan primer MIE 4 dan MIE5, sedangkan PCR putaran kedua menggunakan primer IE1 dan IE2. Sekuen primer MIE4: 5'-CCA AGC GGC CTC TGA TAA CCA AGC C-3' dan MIE5: 5'-CAG CAC CAT CCT CCT CTT CCT CTG G-3' pada first round PCR dengan produk 435bp dan pasangan primer IE1: 5'- CCA CCC

GTG GTG CCA GCT CC-3' dan IE2: 5'-CCC GCT CCT CCT GAG GAC CC-3' untuk second round PCR dengan produk 161bp.



Gambar 1. Posisi pita untuk hasil PCR betha Globin CMV first dan second round



Gambar 2. Hasil deteksi infeksi HCMV dengan primer MIE4/MIE5 dari specimen biopsi liver. Lane 1= M, lane 2,3,4, 5 = sampel positif, lane 6 = kontrol negatif.

PCR menggunakan master mix PCR (Promega). Reaksi PCR yaitu 10 μ l master mix (Promega), 1 μ l *primer forward* MIE4 10pmol, 1 μ l *primer reverse* MIE5 10pmol, 4 μ l ddH₂O, dan 4 μ l DNA *template*. Kondisi PCR yaitu *initial denaturation* 94°C selama 5 menit, *denaturation* 94°C selama 30 detik, *annealing* 67°C selama 30 detik, *elongation* 72°C selama

45 detik, semua dilakukan selama 40 x siklus, kemudian *final elongation* 72°C selama 7 menit. Produk PCR kemudian dielektroforesis pada gel akrilamid konsentrasi 2%. Marker DNA yang digunakan untuk elektroforesis pada penelitian ini yaitu 100bp DNA markers (Promega) (Gambar 1). Hasil deteksi infeksi HCMV dengan teknik PCR konvensional pada sampel urin diekstraksi yaitu terdapat 34 (87,2%) pasien dengan hasil PCR positif dan 5 (12,8%) dengan hasil PCR negatif, dan dari urin langsung yaitu 19 (48,7%) pasien positif dan 20 (51,3%) pasien dengan hasil PCR negative (Tabel 2).

Asosiasi hasil pemeriksaan serologis anti HCMV dengan pemeriksaan PCR urin yang diekstraksi pada bayi penderita cholestasis dilakukan dengan *Fisher's Exact Test*. Hasil menunjukkan bahwa terdapat asosiasi dengan nilai $p < 0.05$. *Coefficient contingency* berbeda bermakna dengan nilai 0,4 ($p = 0.024$). Hal ini menunjukkan kekuatan asosiasi sedang (moderate). Hal ini menunjukkan bahwa pasien bayi cholestasis akut yang ditunjukkan dengan hasil serologis IgM dan IgG positif menunjukkan bahwa semua pasien mempunyai hasil positif PCR HCMV. Hal yang menarik yaitu hasil pemeriksaan serologis IgM dan IgG negatif, namun hasil PCR Urin positif. Hal tersebut mungkin disebabkan karena infeksi HCMV masih pada tahap awal sehingga masih belum ditemukan IgM dan IgG.

Tabel 3 Asosiasi hasil pemeriksaan serologis anti HCMV dengan pemeriksaan PCR urin yang diekstraksi dan langsung pada bayi penderita cholestasis

Pemeriksaan Serologis	PCR Urin		Total	Nilai p	<i>Coefficient contingency</i>
	Positif	Negatif			
IgM+, IgG+	16 (100.0%)	0	16 (100.0%)	0.028	0.4 ($p = 0.024$)
IgM-, IgG+	16 (84.2%)	3 (15.8%)	19 (100.0%)		
IgM-, IgG-	2 (50.0%)	2 (50.0%)	4 (100.0%)		
Total	34 (87.2%)	5 (12.8%)	39 (100.0%)		
PCR Direct Urin					
IgM+, IgG+	11 (68.8%)	5 (31.3%)	16 (100.0%)	0.035	0.383 ($p = 0.035$)
IgM-, IgG+	8 (42.1%)	11 (57.9%)	19 (100.0%)		
IgM-, IgG-	0 (0%)	4 (100.0%)	4 (100.0%)		
Total	19 (48.7%)	20 (51.3%)	39 (100.0%)		

Asosiasi hasil pemeriksaan serologis anti HCMV dengan pemeriksaan PCR urin yang langsung digunakan untuk PCR pada bayi penderita cholestasis dilakukan dengan *Fisher's Exact Test*. Hasil menunjukkan bahwa terdapat asosiasi antara hasil pemeriksaan serologis anti HCMV dengan pemeriksaan PCR urin secara langsung tanpa diekstraksi (direct Urin) pada bayi penderita cholestasis ($p=0.05$) dengan *coefficient contingency* 0.383 yang berbeda bermakna ($p=0.035$). Hal ini menunjukkan kekuatan asosiasi sedang (moderate). Hasil ini menunjukkan bahwa pasien yang secara serologis negatif untuk IgM dan IgG, maka DNA virus tidak ditemukan di urin. Pada tahap awal infeksi, virus yang dieksresikan ke urin sangat sedikit sehingga tidak terdeteksi dengan PCR dari sampel urin direct tanpa diekstraksi.

Tabel 4. Hasil uji beda PCR HCMV dari urin yang diekstraksi dengan direct urin

Direct Urin	Extract Urin		Total	Nilai p
	Positif	Negatif		
Positif	19 (100%)	0 (0%)	19 (100%)	0,064
Negatif	15 (75%)	5 (25%)	20 (100%)	
Total	34 (87.2%)	5 (12.8%)	39 (100%)	

Perbedaan antara hasil PCR dari urin yang diekstraksi dan tidak diekstraksi (langsung) diuji dengan *Chi-square test*. Hasil uji Chi Square dengan *continuity correction* menunjukkan tidak terdapat perbedaan antara hasil PCR Urin dengan PCR Direct Urin ($p > 0,05$). Namun data tersebut menunjukkan bahwa hasil PCR direct urin 100% positif pada sampel dengan hasil PCR dari urin extract yang positif, sedangkan hasil PCR direct urin 75% hasil negative pada hasil PCR dari urin ekstrak positif dan 25% negative pada urin ekstrak dengan hasil negatif. Hal ini menunjukkan bahwa dalam menegakkan diagnosis infeksi HCMV dari sampel urin maka hasil yang lebih tepat jika digunakan sampel dari urin yang diekstraksi.

BAB 6

PEMBAHASAN

Kolestasis adalah penurunan atau terhambatnya aliran empedu pada setiap tingkatan ke saluran bilier ekstrahepatik dan duodenum. Gejala utama dari kolestasis adalah ikterus, tinja akholis, dan urin berwarna gelap. Pemeriksaan laboratorium menunjukkan peningkatan bilirubin terkonjugasi. Kolestasis didefinisikan sebagai kadar bilirubin terkonjugasi lebih dari 20% dari kadar bilirubin total jika kadar bilirubin total > 5mg/dl atau kadar bilirubin direk lebih dari 2mg/dl apabila bilirubin total < 5mg/dl (Davis, 2011; Rashed, 2013; Suchy F, 2004). Kolestasis merupakan penyebab morbiditas dan mortalitas yang penting pada bayi dan anak. Ketidakmampuan untuk mendeteksi dan memonitor progresifitas kerusakan hati akan menghambat manajemen penyakit dengan kolestasis. Akumulasi dari asam empedu berdampak terjadinya hepatotoksisitas sehingga merupakan penyebab yang mendasari kelainan pada hati (Pereira, 2010; Ramm, 1998).

Penyebab kolestasis terbanyak adalah atresia bilier, infeksi, dan defisiensi α -1 antitripsin (Fischler, 2014). Atresia bilier ekstrahepatik adalah penyakit yang paling sering ditemukan, sekitar sepertiga dari kasus yang dilaporkan. *Inherited* kolestasis sekitar 10%-20%, 10% disebabkan karena defisiensi α -1 antitripsin, 20% karena *inborn errors of metabolism*, dan infeksi kongenital (TORCH) sekitar 5% (Suchy, 2004). Secara garis besar kolestasis dapat diklasifikasikan menjadi kolestasis ekstrahepatik yang merupakan obstruksi mekanis saluran empedu ekstrahepatik dan kolestasis intrahepatik yang disebabkan karena obstruksi saluran empedu intrahepatik dan adanya kelainan hepatosit (Arief, 2004).

Bayi diduga mengalami kolestasis jika *jaundice* tidak menghilang lebih dari usia dua minggu. Gejala kolestasis adalah tinja pucat, urin berwarna gelap, tidak gatal selama masa bayi, pembesaran hati, terkadang didapatkan splenomegali. Pada pemeriksaan laboratorium

didapatkan hiperbilirubin khususnya *conjugated*, peningkatan *γ-glutamyl transferase* serta *alkaline phosphatase*. Pada kolestasis juga didapatkan malabsorpsi vitamin yang larut lemak serta defisiensi vitamin K1, pencetus timbulnya perdarahan. USG abdomen harus dilakukan pada semua bayi dengan kolestasis. Jika didapatkan tinja pucat yang permanen, biopsi hati atau *cholangiography* harus segera dilakukan untuk menyingkirkan atau mengkonfirmasi atresia bilier (Girard, 2008).

Cytomegalovirus atau *human cytomegalovirus* (HCMV) termasuk dalam *beta human herpesvirus type 5*. Dibandingkan dengan *human herpesvirus* yang lain, HCMV paling besar, dengan genom 235kb encoding 165 gene. Virion terdiri dari *double-stranded linear* DNA inti dalam *icosahedral nucleocapsid*, dilindungi oleh *proteinaceous matrix* (gambar 2.5) (Crough, 2009). Infeksi CMV pada janin dan bayi merupakan masalah kesehatan yang penting di seluruh dunia. Di United States, CMV merupakan infeksi kongenital oleh virus yang paling sering ditemukan, sekitar 0,2%-2,5% dari seluruh kelahiran hidup. Infeksi oleh CMV ada dimana-mana, bisa terjadi pada semua populasi serta semua tingkat sosioekonomi setiap tahun tanpa dipengaruhi musim. CMV dapat diisolasi dari jaringan tubuh dan cairan tubuh seperti air mata, kelenjar ludah, ASI, urin, tinja, semen, sekresi mulut rahim, cairan ketuban, darah, serta transplantasi organ (Stehel, 2005). Gejala yang ditimbulkan dari infeksi kongenital pada masa bayi adalah mikrocephali (70%), penurunan nilai intelektual (60%), tuli (35%), korioretinitis (22%), hepatosplenomegali (70%), *jaundice* (68%), trombositopeni (65%), berat badan lahir rendah (65%), *pneumonitis* (2-5%) serta kelainan jantung (<5%) (Bhatia, 2010).

CMV diduga sebagai salah satu penyebab kolestasis, sekitar 1%-2,4% infeksi CMV pada bayi baru lahir di Amerika Utara (Oliveira, 2002). Prevalensi CMV pada penderita kolestasis intrahepatik pada masa bayi berkisar (5%-46%) tergantung dari metode diagnostik yang digunakan (Brandao, 2009). Penelitian di China pada 85 penderita neonatal kolestasis setelah operasi Kasai portoenterostomi didapatkan 65% DNA CMV pada spesimen biopsi jaringan

duktus biliaris (Xu Y, 2012). Penelitian di Brasil tahun 2001 menunjukkan prevalensi infeksi CMV tinggi pada satu tahun pertama kehidupan (Almeida, 2001).

Diagnosa infeksi CMV pada bayi tergantung adanya virus, yang dapat diisolasi di urin (teknik kultur), deteksi IgM pada darah (serologi tes), deteksi antigen CMV (*antigenemia assay*) pada sampel darah serta identifikasi CMV-DNA pada sampel dengan teknik PCR (Bhatia, 2010). Tes serologi sangat berguna untuk menentukan apakah penderita mengalami infeksi CMV pada masa lampau, dengan melihat ada atau tidak ada IgG CMV. Deteksi antibodi IgM digunakan sebagai indikator adanya infeksi akut atau infeksi baru (Ross, 2011). Saat ini metode pemeriksaan serologi yang banyak digunakan untuk diagnosis serologi CMV adalah ELISA (Lequin, 2005). Metode ini dapat mendeteksi adanya antibodi IgM dan IgG spesifik anti CMV dalam sirkulasi (Gehrz, 1982; Sinclair, 2006). Serologi memiliki akurasi yang rendah (59%) untuk mendeteksi infeksi HCMV aktif dengan sensitivitas dan spesifisitas, 54% dan 61% (Tomasso, 2005).

Hasil pemeriksaan serologis menunjukkan bahwa 16/39 (41.0%) pasien positif IgM dan 35/39 (89.7%) pasien positif IgG. Hasil pemeriksaan serologi yang menunjukkan infeksi HCMV akut yang ditunjukkan dengan hasil serologis IgM+, IgG+ yaitu 16/39 (41.0%), pernah terinfeksi yang ditunjukkan oleh hasil serologis IgM- IgG+ yaitu 19/39 (48.7%), dan tidak pernah terinfeksi HCMV yang ditunjukkan oleh hasil serologis IgM- IgG- yaitu 4/39 (10.3%).

Pemeriksaan PCR merupakan metode untuk mendeteksi virologik yang berguna dalam menegakkan diagnosa penyakit virus karena kemampuan untuk mendeteksi DNA virus bahkan dalam jumlah yang sangat minimal. Bahan yang digunakan untuk pemeriksaan PCR antara lain urin, darah, air ludah, cairan liquor, cairan amnion, dan jaringan (Soetens, 2008; Goegebuer, 2009). Hasil deteksi infeksi HCMV dengan teknik PCR konvensional pada sampel urin diekstraksi yaitu terdapat 34 (87,2%) pasien dengan hasil PCR positif dan 5 (12,8%) dengan

hasil PCR negatif, dan dari urin langsung yaitu 19 (48,7%) pasien positif dan 20 (51,3%) pasien dengan hasil PCR negative.

Asosiasi hasil pemeriksaan serologis anti HCMV dengan pemeriksaan PCR urin yang diekstraksi pada bayi penderita cholestasis dilakukan dengan *Fisher's Exact Test*. Hasil menunjukkan bahwa terdapat asosiasi dengan nilai $p < 0.05$. *Coefficient contingency* berbeda bermakna dengan nilai 0,4 ($p = 0.024$). Hal ini menunjukkan kekuatan asosiasi sedang (moderate). Hal ini menunjukkan bahwa pasien bayi cholestasis akut yang ditunjukkan dengan hasil serologis IgM dan IgG positif menunjukkan bahwa semua pasien mempunyai hasil positif PCR HCMV. Hal yang menarik yaitu hasil pemeriksaan serologis IgM dan IgG negatif, namun hasil PCR Urin positif. hal tersebut mungkin disebabkan karena infeksi HCMV masih pada tahap awal sehingga masih belum ditemukan IgM dan IgG.

Asosiasi hasil pemeriksaan serologis anti HCMV dengan pemeriksaan PCR urin yang langsung digunakan untuk PCR pada bayi penderita cholestasis dilakukan dengan *Fisher's Exact Test*. Hasil menunjukkan bahwa terdapat asosiasi antara hasil pemeriksaan serologis anti HCMV dengan pemeriksaan PCR urin secara langsung tanpa diekstraksi (direct Urin) pada bayi penderita cholestasis ($p < 0.05$) dengan *coefficient contingency* 0.0383 yang berbeda bermakna ($p = 0.035$). Hal ini menunjukkan kekuatan asosiasi sedang (moderate). Hasil ini menunjukkan bahwa pasien yang secara serologis negatif untuk IgM dan IgG, maka DNA virus tidak ditemukan di urin. Pada tahap awal infeksi, virus yang dieksresikan ke urin sangat sedikit sehingga tidak terdeteksi dengan PCR dari sampel urin direct tanpa diekstraksi.

Perbedaan antara hasil PCR dari urin yang diekstraksi dan tidak diekstraksi (langsung) diuji dengan *Chi-square test*. Hasil uji Chi Square dengan *continuity correction* menunjukkan tidak terdapat perbedaan antara hasil PCR Urin dengan PCR Direct Urin ($p > 0,05$). Namun data tersebut menunjukkan bahwa hasil PCR direct urin 100% positif pada sampel dengan hasil PCR dari urin extract yang positif, sedangkan hasil PCR direct urin 75% terdapat pada

hasil PCR dari urin ekstrak dengan hasil positif dan 25% terdapat pada urin ekstrak dengan hasil negatif. Hal ini menunjukkan bahwa dalam menegakkan diagnosis infeksi HCMV dari sampel urin maka hasil yang lebih tepat jika digunakan sampel dari urin yang diextract.

CMV masuk ke dalam sel dengan cara endositik, virus akan terikat dengan sel melalui interaksi antar sel dengan glikoprotein virus (gB dan gH) dan terikat pada reseptor spesifik yang ada di permukaan sel inang (*platelet-derived growth factor α*). Kemudian virus menembus membran sel, selubung virus terlepas, dan nucleocapsid masuk ke sitoplasma sel. Nucleocapsid menuju inti sel serta melepaskan DNA ke dalam inti sel. Kemudian terjadi inisiasi dari ekspresi gen IE-1 dan IE-2 yang menstimulasi terjadinya replikasi dan maturasi DNA virus. Proses maturasi membentuk capsid kembali dan akan ditransportasikan keluar inti sel menuju sitoplasma. Di dalam sitoplasma akan terjadi pembentukan selubung virus lagi oleh retikulum endoplasma dan badan golgi. Selanjutnya akan terbentuk virion CMV dan dilepaskan keluar sel melalui proses eksositosis. Siklus replikasi HCMV termasuk lambat, keseluruhan proses replikasi memerlukan waktu 48-72jam (Crough, 2009).

Infeksi CMV pada janin dan bayi merupakan masalah kesehatan yang penting di seluruh dunia. Di United States, CMV merupakan infeksi kongenital oleh virus yang paling sering ditemukan, sekitar 0,2%-2,5% dari seluruh kelahiran hidup. Infeksi oleh CMV ada dimanamana, bisa terjadi pada semua populasi serta semua tingkat sosioekonomi setiap tahun tanpa dipengaruhi musim. CMV dapat diisolasi dari jaringan tubuh dan cairan tubuh seperti air mata, kelenjar ludah, ASI, urin, tinja, semen, sekresi mulut rahim, cairan ketuban, darah, serta transplantasi organ (Stehel, 2005). Gejala yang ditimbulkan dari infeksi kongenital pada masa bayi adalah mikrocephali (70%), penurunan nilai intelektual (60%), tuli (35%), korioretinitis (22%), hepatosplenomegali (70%), *jaundice* (68%), trombositopeni (65%), berat badan lahir rendah (65%), *pneumonitis* (2-5%) serta kelainan jantung (<5%) (Bhatia, 2010). CMV diduga sebagai salah satu penyebab kolestasis, sekitar 1%-2,4% infeksi CMV pada bayi baru lahir di

Amerika Utara (Oliveira, 2002). Prevalensi CMV pada penderita kolestasis intrahepatik pada masa bayi berkisar (5%-46%) tergantung dari metode diagnostik yang digunakan (Brandao, 2009). Penelitian di China pada 85 penderita neonatal kolestasis setelah operasi Kasai portoenterostomi didapatkan 65% DNA CMV pada spesimen biopsi jaringan duktus biliaris (Xu Y, 2012). Penelitian di Brasil tahun 2001 menunjukkan prevalensi infeksi CMV tinggi pada satu tahun pertama kehidupan (Almeida, 2001).

CMV dapat ditularkan ke janin atau bayi karena infeksi primer ibu, rekurens atau reaktivasi infeksi, atau reinfeksi dengan strain CMV yang berbeda yang sebelumnya sudah pernah menginfeksi ibu. Berdasarkan waktu terjadinya infeksi CMV pada janin atau bayi, penularan CMV terbagi menjadi masa prenatal, natal atau post natal (Stehel, 2005).

Infeksi prenatal atau infeksi kongenital terjadi didalam rahim melalui *transplacental*, penyebaran secara hematogen selama proses viremia pada ibu. Infeksi pada janin bisa terjadi dan bertambah berat setelah infeksi primer pada ibu kemudian setelah reaktivasi infeksi laten dari ibu. Insiden infeksi CMV primer yang didapat selama kehamilan berkisar 1%-4% dan resiko kejadian infeksi kongenital sebesar 40%. Sekitar 10%-15% bayi yang terinfeksi CMV menunjukkan gejala klinis/simptomatis (Stehel, 2005).

Infeksi perinatal atau natal terjadi melalui dua cara yaitu sekret vagina dan air susu yang mengandung virus CMV. Infeksi perinatal lebih sering terjadi dibandingkan infeksi kongenital, sumber infeksi utama adalah kontak dengan sekret vagina selama persalinan serta melalui air susu (Leila, 2002). Sekitar 2%-28% wanita hamil yang positif CMV pada cairan mulut rahim atau cairan vagina selama proses kelahiran. Sekitar 50% bayi yang terpapar menjadi terinfeksi CMV serta menunjukkan gejala klinis saat usia empat sampai enam minggu (Stehel, 2005).

Infeksi CMV pada post natal yaitu terjadi penularan CMV ibu ke bayi terjadi selama masa menyusui karena 9%-88% wanita positif CMV pada air susu ibu. Sekitar 50%-60% bayi yang mendapatkan ASI yang mengandung CMV menjadi terinfeksi (Stehel, 2005). Kejadian kolestasis neonatal melalui transmisi postnatal lebih jarang dibandingkan melalui transmisi yang lain, sekitar 10% melalui [transfusi darah yang terinfeksi](#) (Kim, 2010; Fischer 2010).

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Kesimpulan pada penelitian ini yaitu :

1. Berdasarkan hasil pemeriksaan serologis pada bayi penderita kolestasis menunjukkan bahwa 16/39 (41.0%) pasien positif IgM, 35/39 (89.7%) pasien positif IgG, dan terdapat 16/39 (41.0%) infeksi HCMV akut yang ditunjukkan oleh hasil pemeriksaan serologis IgM+IgG+, 19/39 (48.7%) pernah terinfeksi yang ditunjukkan oleh hasil pemeriksaan serologis IgM-IgG+ dan 4/39 (10.3%) tidak pernah terinfeksi HCMV yang ditunjukkan oleh hasil serologis IgM-IgG-.
2. Berdasarkan hasil pemeriksaan DNA HCMV dengan teknik PCR konvensional dari sampel urin yang diekstraksi menunjukkan bahwa terdapat 34 (87,2%) pasien yang terinfeksi HCMV dan 5 (12,8%) pasien yang tidak terinfeksi HCMV pada bayi penderita neonatal cholestasis
3. Berdasarkan hasil pemeriksaan DNA HCMV dengan teknik PCR konvensional dari sampel urin langsung (direct urin tanpa diekstraksi) menunjukkan bahwa terdapat 19 (48,7%) pasien yang terinfeksi HCMV dan 20 (51,3%) pasien yang tidak terinfeksi HCMV pada bayi penderita neonatal cholestasis
4. Terdapat asosiasi moderate dengan *coeficient contingency* berbeda bermakna dengan nilai 0,4 ($p=0.024$) antara hasil pemeriksaan serologis anti HCMV dengan pemeriksaan PCR urin yang diekstraksi pada bayi penderita cholestasis.
5. Terdapat asosiasi moderate dengan *coeficient contingency* berbeda bermakna dengan nilai 0.383 ($p=0.0355$) antara hasil pemeriksaan serologis anti HCMV dengan pemeriksaan PCR urin secara langsung tanpa diekstraksi (direct Urin) pada bayi penderita cholestasis.

6. Tidak terdapat perbedaan antara indentifikasi infeksi HCMV dengan teknik PCR konvensional dari sampel urin yang diekstraksi dan tidak diekstraksi (langsung) pada bayi penderita kolestasis. Hasil PCR direct urin 100% positif pada sampel dengan hasil PCR dari urin extract yang positif, sedangkan hasil PCR direct urin 75% negatif pada hasil PCR dari urin ekstrak dengan hasil PCR positif dan 25% negative pada urin ekstrak dengan hasil PCR negatif. Hal ini menunjukkan bahwa dalam menegakkan diagnosis infeksi HCMV dari sampel urin maka hasil yang lebih tepat jika digunakan sampel dari urin yang diekstraksi.

7.2 Saran

Saran pada penelitian ini yaitu masih perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui asosiasi hubungan infeksi HCMV yang dideteksi dengan teknik PCR dari sampel urin dengan sampel darah atau jaringan biopsy liver sehingga bias secara tepat digunakan untuk menegakkan diagnosis infeksi HCMV.

DAFTAR PUSTAKA

- Almeida LN, Azevedo RS dan Amaku M, 2001. Cytomegalovirus seroepidemiology in an urban community of sao Paulo, brazil. *Rev Saude Publica*, 35, 124-9.
- Amarapal P, Tantivanich S, Pengsa K, Chotekiate U, Kaolueng S, Balachandra K, Janeprasert J dan Samkosade R, 2001. Rapid diagnosis of cytomegalovirus infection in congenital neonates. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 32, 154-7.
- Bhatia P, Narang A dan Minz RW, 2010. Neonatal cytomegalovirus infection: diagnostic modalities available for early disease detection. *Indian J Pediatr*, 77, 77-9
- Boppana SB, Ross SA, Shimamura M, Palmer AL, Ahmed A dan Michaels MG, 2011. Saliva Polymerase-Chain-Reaction Assay for Cytomegalovirus Screening in Newborns. *The New England journal of medicine*, 364, 2111-8
- Brandao MA, Andrade PD, Costa S, Escanhoela C, Vassallo J, Porta G, Tomasso A dan Hessel G, 2009. Cytomegalovirus frequency in neonatal intrahepatic cholestasis determined by serology, histology, immunohistochemistry, and PCR. *World J Gastroenterol*, 15, 3411-6.
- Chang MH, Huang HH, Huang ES, Kao CL, Hsu HY dan Lee CY, 1992. Polymerase chain reaction to detect human cytomegalovirus in livers of infants with neonatal hepatitis. *Gastroenterology*, 103, 1022-5.
- Davis AR, Rosenthal P, Escobar GJ dan Newman TB, 2011. Interpreting conjugated bilirubin levels in newborns. *J Pediatr*, 158, 562-5.
- De Tommaso AM, Andrade PD, Costa SC, Escanhoela CA dan Hessel G, 2005. High frequency of Human Cytomegalovirus DNA in the Liver of Infants with Extrahepatic Neonatal Cholestasis. *BMC Infectious Diseases*, 5, 108.
- [Feldman](#) AG and [Sokol](#) RJ. 2013. Neonatal Cholestasis Neoreviews. 2013 Feb 1; 14(2): 10.1542/neo.14-2-e63.
- Fischer C, Meylan D dan Graz MB, 2010. Severe postnatally acquired cytomegalovirus infection presenting with colitis, pneumonitis, and sepsis-like syndrome in an extremely low birth weight infant. *Neonatology*, 97, 339-45
- Fischler B dan Lamireau T. Cholestasis in the newborn and infant, 2014. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 38, 263-7.
- Gehrz RC, Linner KM dan Christianson, 1982. Cytomegalovirus infection in infancy: virological and immunological studies. *Clin Exp Immunol*, 47, 27-33.
- Girard M dan Lacaille F, 2008. Diagnosis of neonatal cholestasis. *Ann Nestle*, 66, 109-20
- Goegebuer T, Mensel BV dan Beuselinck K, 2009. Clinical predictive value of real-time PCR quantification of human cytomegalovirus DNA in amniotic fluid samples. *J Clin Microbiol*, 47, 660-5.
- Griffiths PD dan Grundy JE, 1987. Molecular biology and immunology of cytomegalovirus. *J Biochem*, 241, 313-24.
- James K, 1990. Immunoserology of infectious diseases. *Clin Microbiol Rev*, 3, 132-52
- Kim CS, 2010. Congenital and perinatal cytomegalovirus infection. *Korean J Pediatr*, 53, 14-20.

- Lanari M, Lazzarotto T, Venturi V, Papa I, Gabrielli L dan Guerra B, 2006. Neonatal cytomegalovirus blood load and risk of sequelae in symptomatic and asymptomatic congenitally infected newborns. *Pediatrics*, 117, e76-83.
- Landry ML dan Ferquson D, 1993. Comparison of quantitative cytomegalovirus antigenemia assay with culture methods and correlation with clinical disease. *J Clin Microbiol*, 31, 2851-6.
- LaSala PR, Yarsa J dan Nguyen W, 2009. Evaluation of abbreviated protocol for cytomegalovirus pp65 antigenemia testing. *Am J Clin Pathol*, 131, 526-31.
- Lazzarotto T, Guerra B, Spezzacatena P, Varani S, Gabrielli L dan Pradelli P, 1998. Prenatal Diagnosis of Congenital Cytomegalovirus Infection. *J Clin Microbiol*, 36, 3540-4.
- Leila N, 2002. Infection by cytomegalovirus in patients with neonatal cholestasis. *Arq Gastroenterol*, 39, 132-6.
- Lequin RM, 2005. Enzyme immunoassay (EIA)/ enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), 51, 434-9
- Oliviera NL, Kanawaty FR, Costa S dan Hessel G, 2002. Infection by cytomegalovirus in patients with neonatal cholestasis. *Arq de Gastroenterol*, 39, 132-6.
- Pawłowska JE, Dorota G, Irena J, Przemysław K, Bożena C dan Katarzyna D, 2010. The role of cytomegalovirus infection in pathogenesis of neonatal cholestasis. *Experimental & Clinical Hepatology*, 6, 25-9.
- Pereira TN, Walsh MJ, Lewindon PJ dan Ramm GA, 2010. Paediatric cholestatic liver disease: Diagnosis, assessment of disease progression and mechanisms of fibrogenesis. *World J Gastrointest Pathophysiol*, 1, 69-84.
- Poddar U, Thapa BR, Das A, Bhattacharya A, Rao KLN dan Singh K, 2009. Neonatal cholestasis: differentiation of biliary atresia from neonatal hepatitis in a developing country. *Acta Pædiatrica*, 98, 1260-4.
- Ramm GA, Nair VG, Bridle KR, Shepherd RW dan Crawford DH, 1998. Contribution of hepatic parenchymal and nonparenchymal cells to hepatic fibrogenesis in biliary atresia. *Am J Pathol*, 153, 527-35.
- Rashed YK, Saber MA, Tawfik M dan Mourad WS, 2013. Histopathological features and accuracy for diagnosing biliary atresia by prelaparotomy liver biopsy in Egypt. *Egyptian Ped Asc Gazette*, 61, 42-5.
- Rastogi A, Krishnani N, Yachha SK, Khanna V, Poddar U dan Lal R, 2008. Histopathological features and accuracy for diagnosing biliary atresia by prelaparotomy liver biopsy in developing countries. *J Gastroenterol Hepatol*, 24, 97-102.
- Ross S, Novak Z, Pati S dan Boppana S, 2011. Diagnosis of Cytomegalovirus Infections. *Infect Disord Drug Targets*, 11, 466-74.
- Schleiss MR, 2013. Cytomegalovirus in the neonate: immune correlates of infection and protection. *Immunol Rev*, 1-14.
- Sinclair J dan Sissons P, 2006. Latency and reactivation of human cytomegalovirus. *J Gen Virol*, 87, 1763-79.
- Sira MM, Sira AM, Elhenawy IA dan Khalil FO, 2016. Prevalence of serological markers of TORCH infections in Biliary atresia and other neonatal cholestatic disorders. *Peertechz J Pediatr Ther*, 2(1), 013-7.

- Soetens O, Fellous CV dan Foulun I, 2008. Evaluation of different cytomegalovirus (CMV) DNA PCR protocols for analysis of dried blood spots from consecutive cases of neonates with congenital CMV infections. *J Clin Microbiol*, 46, 943-6.
- Stehel EK dan Sánchez PJ, 2005. Cytomegalovirus infection in the fetus and neonate. *NeoReviews*, 6, e38-e45.
- Suchy FJ, 2004. Neonatal cholestasis. *Pediatr Rev*, 25, 388-96.
- Swanson EC dan Schleiss MR, 2013. Congenital Cytomegalovirus infection: new prospects for prevention and therapy. *Pediatr Clin North Am*, 60, 1-17
- Tezer H, Secmeer G, Kara A, Ceyhan M, Cengiz AB dan Devrim I, 2008. Cytomegalovirus hepatitis and ganciclovir treatment in immunocompetent children. *Turk J Pediatr*, 50, 228-34.
- Vancikova Z, Kucerova T, Pelikan L, Zikmundova L dan Priglova M, 2004. Perinatal cytomegalovirus hepatitis: to treat or not to treat with ganciclovir. *J Paediatr Child Health*, 40, 444-8.
- Xu Y, Yu J, Zhang R, Yin Y, Ye J dan Tan L, 2012. The perinatal infection of cytomegalovirus is an important etiology for biliary atresia in China. *Clin Pediatr (Phila)*, 51, 109-13.
- Zhang S, Zhou Y-H, Li L dan Hu Y, 2010. Monitoring human cytomegalovirus infection with nested PCR: comparison of positive rates in plasma and leukocytes and with quantitative PCR. *Virology Journal*, 7, 73.

Lampiran 1. Susunan Organisasi Tim Peneliti/Pelaksana dan Pembagian Tugas

No	Nama/NIDN	Instansi Asal	Bidang Ilmu	Alokasi Waktu (jam/minggu)	Uraian Tugas
1	Dr. Gondo Mastutik, drh., M.Kes. 0027067304	Dep Patologi Anatomi	Patobiologi Biologi Molekuler	20	<ul style="list-style-type: none"> • Koordinasi kegiatan penelitian secara menyeluruh • Penyusunan Proposal • Pemesanan reagen penelitian • Ekstraksi DNA virus • PCR dan sekuensing • Analisis data bioinformatika
2	Anny SetijoRahaju, dr., Sp.PA(K) 0020097009	Departemen Patologi Anatomi, FK UNAIR	Patologi Anatomi	15	<ul style="list-style-type: none"> • Koordinasi kegiatan pengumpulan pasien • Pengumpulan data karakteristik pasien • Pengumpulan data IgM dan IgG • Dokumentasi kegiatan Penelitian
3	Nila Kurniasari, dr., SpPA (K) 0023018107	Departemen Patologi Anatomi, FK UNAIR	Patologi Anatomi	15	<ul style="list-style-type: none"> • Analisis statistik • Penyusunan Laporan kemajuan • Penyusunan laporan akhir • Penyusunan manukrip publikasi

Lampiran 2. Draft Luaran Peneliti

ASOSIASI INFEKSI *HUMAN CYTOMEGALOVIRUS* DENGAN PEMERIKSAAN PCR DARI SPESIMEN URIN DENGAN PEMERIKSAAN SEROLOGIS PADA BAYI PENDERITA KOLESTASIS

Gondo Mastutik¹, Alphania Rahniayu^{1,2}, Anny Setijo Rahaju^{1,2}, Nila Kurniasari^{1,2}, Siti Erdiantri Ruslan³, Bagus Setyo boedi⁴

¹Department of Anatomic Pathology, Faculty of Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

²Department of Anatomic Pathology, Dr. Soetomo General Academic Hospital, Surabaya, Indonesia

³Institute of Tropical Diseases, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

⁴Department of Pediatric, Dr. Soetomo General Academic Hospital, Surabaya, Indonesia

Abtrack

Pendahuluan. Kejadian kolestasis pada masa bayi dikaitkan dengan kelainan kongenital atau infeksi virus yaitu infeksi *Human cytomegalovirus* (HCMV). Teknik PCR merupakan teknik sensitif untuk mendeteksi HCMV ini dengan target gen *major immediate early* (MIE). Gen IE sudah terbentuk 2-4 jam post infeksi sehingga bisa mendeteksi infeksi HCMV lebih awal sehingga memungkinkan untuk mendeteksi DNA HCMV dari cairan tubuh sejak hari ke dua atau ketiga post infeksi dengan teknik PCR. Urin merupakan cairan tubuh yang mudah didapatkan dan tidak invasif pada bayi yang baru lahir. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengungkap korelasi deteksi infeksi HCMV dengan PCR dari spesimen urine yang diekstraksi atau tidak diekstraksi dibandingkan dengan pemeriksaan serologis IgM dan IgG pada bayi penderita kolestasis.

Metode. Penelitian ini merupakan penelitian *observasional discriptive* dengan pendekatan *cross sectional* pada bayi penderita kolestasis yang dirawat di bagian Instalasi Rawat Inap Ilmu Kesehatan Anak RSUD Dr. Soetomo, Surabaya. Penelitian ini telah mendapatkan etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan, RSUD Dr Soetomo Surabaya dan orang tua atau wali subyek telah menandatangani surat persetujuan tertulis setelah menerima penjelasan *informed consent*. Kadar IgM dan IgG HCMV diperoleh dari *The VIDAS CMV IgM and IgG Assay*. Identifikasi infeksi HCMV dilakukan dengan teknik nested PCR menggunakan primer MIE 4/MIE5 dan IE1/ IE2. Asosiasi antara hasil pemeriksaan serologis anti HCMV dengan pemeriksaan PCR urin yang diekstraksi dan yang langsung pada bayi penderita kolestasis dilakukan dengan Chi-square, jika berbeda nyata maka untuk mengetahui kekuatan hubungan dilihat coefficient contingency.

Hasil penelitian. Bayi penderita kolestasis pada penelitian sebanyak 39 bayi penderita kolestasis, yang terdiri dari 17 bayi laki-laki dan 22 bayi wanita, berusia antara 1-12 bulan dengan (mean \pm SD = 3,44 \pm 2,326). Hasil pemeriksaan serologis menunjukkan bahwa 16/39 (41.0%) pasien positif IgM dan 35/39 (89.7%) pasien positif IgG. Hasil pemeriksaan serologi yang menunjukkan infeksi HCMV akut yang ditunjukkan dengan hasil serologis IgM+, IgG+ yaitu 16/39 (41.0%), pernah terinfeksi yang ditunjukkan oleh hasil serologis IgM- IgG+ yaitu 19/39 (48.7%), dan tidak pernah terinfeksi HCMV yang ditunjukkan oleh hasil serologis IgM- IgG- yaitu 4/39 (10.3%). Hasil deteksi PCR DNA HCMV dari sampel urin diekstraksi yaitu

terdapat 34 (87,2%) pasien dengan hasil PCR HCMV positif dan 5 (12,8%) dengan hasil PCR HCMV negatif, dan dari urin langsung yaitu 19 (48,7%) pasien dengan hasil PCR HCMV positif dan 20 (51,3%) pasien dengan hasil PCR negatif. pada bayi penderita neonatal cholestasis.

Terdapat asosiasi moderate dengan *coeficient contingency* berbeda bermakna dengan nilai 0,4 ($p=0.024$) dan nilai 0.383 ($p=0.0355$) antara hasil pemeriksaan serologis anti HCMV dengan pemeriksaan PCR urin yang diekstraksi dan urin secara langsung tanpa diekstraksi (direct Urin) pada bayi penderita cholestasis. Tidak terdapat perbedaan antara indentifikasi infeksi HCMV dengan teknik PCR konvensional dari sampel urin yang diekstraksi dan tidak diekstraksi (langsung) pada bayi penderita kolestasis ($P>0.05$).

Kesimpulan. Terdapat asosiasi antara hasil pemeriksaan serologis anti-HCMV dengan hasil pemeriksaan PCR HCMV sampel urin yang diektraksi dan langsung dari bayi penderita kolestasis . Tidak terdapat perbedaaan antara hasil pemeriksaan PCR HCMV sampel urin yang diektraksi dan langsung dari bayi penderita kolestasis. Hal ini menunjukkan bahwa dalam menegakkan diagnosis infeksi HCMV, teknik PCR bisa mendeteksi infeksi HCMV lebih awal dan sampel urin yang digunakan lebih tepat jika digunakan sampel dari urin yang diekstraksi.

Kata kunci: Human cytomegalovirus, kolestasis, PCR, gen MIE

Corresponding Author:

Gondo Mastutik, Department of Anatomic Pathology, Faculty of Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia. St. Prof. Dr. Moestopo No 47, Surabaya 60132, Indonesia, Phone: +62-31-5020251 ext 151. E-mail: gondomastutik@fk.unair.ac.id, gondomastutik@gmail.com

PENDAHULUAN

Ikhterus adalah suatu kondisi dimana kulit, sklera, membran mukosa, dan tubuh bayi tampak kekuningan. Ini merupakan hal yang sering ditemukan secara klinis pada dua minggu pertama sejak bayi lahir. Biasanya ikhterus ini hilang dengan sendirinya tanpa intervensi. Namun jika ikhterus berlangsung lebih dari dua minggu, maka harus dipertimbangkan sebagai kondisi kolestasis (Feldman AG and Sokol RJ, 2013). Kolestasis biasanya terjadi pada 1 diantara 2.500 bayi yang lahir. Kolestasis didefinisikan sebagai penurunan aliran empedu karena kegagalan sekresi oleh hepatosit atau obstruksi aliran empedu pada saluran empedu intra atau extra hepatic. Diagnosis kolestasis dilakukan berdasarkan pemeriksaan kadar bilirubin terkonjugasi yaitu kadar bilirubin direk atau terkonjugasi lebih besar dari 2 mg/dL ketika bilirubin total kurang dari 5 mg/dL atau lebih dari 20% dari total bilirubin, jika tital bilirubin lebih dari 5

mg/dL (Feldman AG and Sokol RJ, 2013, Davis, 2011; Rashed, 2013; Suchy F, 2004). Kondisi kolestasis ini apabila tidak terdeteksi sejak dini dan tidak mendapat terapi yang tepat akan menyebabkan kelainan yang serius sehingga menyebabkan kematian.

Kejadian kolestasis pada masa bayi dikaitkan dengan kelainan kongenital atau infeksi virus. Penyebab infeksi yang paling sering yaitu infeksi *Human cytomegalovirus* (HCMV) (Oliveira, 2002) dengan gejala *jaundice* (62%), *petechiae* (58%) dan hepatosplenomegali (50%) (Leung A, 2003). Diagnosa infeksi HCMV pada bayi dilakukan dengan mengisolasi virus dari urin dengan teknik kultur, serologi darah dengan memeriksa deteksi IgM dan IgM anti HCMV, deteksi Antigen CMV dengan *antigenemia assay* pada sample darah serta mengidentifikasi DNA HCMV dengan teknik *polymerase chain reaction* (PCR) (Bhatia, 2010). Kultur virus merupakan *gold standart* untuk diagnosis HCMV, namun diperlukan waktu yang lama untuk mendapatkan hasil pemeriksaan. Virus dinikulasi pada sel fibroblas dan pengamatan dilakukan mulai hari 2 sampai 21 hari sejak inokulasi virus ((Ross, 2011). Selain waktu pengamatan yang lama, juga sering kali didapatkan hasil negatif semu jika spesimen diambil pada waktu *viral load* sedang rendah. Saat ini di Indonesia yang paling sering dilakukan untuk mendiagnosis infeksi HCMV adalah dengan pemeriksaan serologis IgM dan IgG anti HCMV dari sampel darah. Pemeriksaan IgM terbentuk 2-4 minggu sejak infeksi, bertahan dan menurun secara cepat dalam 2-4 bulan, dan kemudian tidak terdeteksi dalam waktu 12 bulan dan terbentuk IgG (de Tommaso et al., 2005). Namun pada bayi yang baru lahir, kemampuan untuk membentuk IgM dan IgG masih rendah. Ig G bayi baru lahir diperoleh secara maternal dari ibunya, sedang IgM masih dalam proses pembelajaran untuk mensintesis secara perlahan (Mack, 2015), sehingga pemeriksaan serologis IgM dan IgG antiHCMV pada minggu pertama bayi lahir masih belum bisa mencerminkan kondisi infeksi HCMV pada bayi.

Proses replikasi virus dimulai dari ekspresi gen immediate-early (IE) virus yaitu 2-4 jam setelah infeksi, kemudian sudah terbentuk virion utuh dan sudah sudah menyebar ke seluruh

cairan tubuh dalam waktu 48-72 jam post infeksi, sehingga DNA HCMV sudah bisa dideteksi di cairan tubuh pada 48-72 jam post infeksi (Crough, 2009, Muller 2010). DNA HCMV dapat diisolasi dari jaringan tubuh dan cairan tubuh seperti air mata, kelenjar ludah, ASI, urin, tinja, semen, sekresi mulut rahim, cairan ketuban, darah, serta transplantasi organ (Stehel, 2005). Teknik PCR merupakan teknik sensitif untuk mendeteksi HCMV berdasarkan reaksi amplifikasi asam nukleat virus. Deteksi HCMV ini dengan target area yang paling *conserv* yaitu gen *major immediate early* (MIE) dan gen *late antigen* (L) dan spesifitas yang tinggi untuk mendeteksi DNA HCMV. Gen IE sudah terbentuk 2-4 jam post infeksi sehingga bisa melakukan deteksi dini infeksi HCMV (Crough, 2009, Muller 2010). Berdasarkan hal tersebut dimungkinkan untuk bisa mendeteksi DNA HCMV dari cairan tubuh sejak hari ke dua atau ketiga post infeksi dengan teknik PCR.

Bayi dengan infeksi HCMV akan menerima pengobatan anti virus atau imunomodulator. Pemberian imunomodulator dapat meningkatkan imunitas sehingga penderita lebih responsif dalam melawan infeksi. Anti virus yang paling sering digunakan yaitu ganciclovir dan vangansiklovir. Pemberian ganciclovir intravena selama enam bulan direkomendasikan untuk terapi pada bayi dengan kongenital HCMV yang simptomatis termasuk kelainan CNS (Swanson, 2013). Ganciclovir (6 mg/kg intravena tiap 12jam) diberikan pada bayi dengan infeksi kongenital CMV. Ganciclovir menghambat DNA virus *polymerase* (Stehel, 2005). Penelitian lain memberikan ganciclovir pada kolestasis neonatal CMV yang berat, menunjukkan peningkatan aminotransferase lebih dari dua kali normal (Vancikova, 2004). Infeksi yang berkelanjutan akan menyebabkan pembentukan fibrosis di sekitar vena porta dan proliferasi duktus empedu sehingga terjadi penyumbatan saluran empedu. Penderita kolestasis yang tidak mendapat pengobatan yang tepat biasanya akan memperparah kondisi pasien sehingga akan cepat meninggal. Berdasarkan hal tersebut maka penentuan diagnosis infeksi HCMV yang cepat akan bermanfaat untuk menurunkan angka kematian akibat kolestasis.

Urin merupakan cairan tubuh yang mudah didapatkan dan tidak invasif pada bayi yang baru lahir. Virus bercampur dengan urin dan debris sel yang terdapat di sepanjang saluran perkemihan. Untuk kepentingan diagnosis maka perlu mempertimbangkan pemanfaatan prosedur ekstraksi DNA atau tidak dalam melakukan PCR HCMV dari spesimen urin karena menghilangkan satu langkah pemeriksaan berarti mengurangi biaya pemeriksaan dan menghemat biaya diagnosis. Tujuan penelitian ini adalah membandingkan pemeriksaan PCR konvensional dari sampel urin yang diekstraksi dan tidak diekstraksi (urin langsung) dengan dibandingkan dengan pemeriksaan serologis IgM dan IgG pada bayi penderita kolestasis.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian *observasional discriptive* dengan pendekatan *cross sectional* yang bertujuan untuk mengetahui korelasi deteksi infeksi HCMV dengan PCR konvensional dari spesimen urine dibandingkan dengan pemeriksaan serologis pada bayi penderita kolestasis yang dirawat di bagian Instalasi Rawat Inap Ilmu Kesehatan Anak RSUD Dr. Soetomo, Surabaya, yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi yaitu bayi penderita kolestasis yang usia 1-12 bulan. Kriteria eksklusi yaitu pasien yang sudah meneima terapi antivirus, pasien HIV, pasien tuberculosis milier, pasien gizi buruk, riwayat menggunakan obat immunosupresi seperti kortikosteroid dan sitostatik, trombosit < 80.000 mg/dl, faal Hemostasis memanjang, dan ascites.

Penelitian ini telah mendapatkan etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan, RSUD Dr Soetomo Surabaya. Subyek penelitian yang bersedia ikut dalam kegiatan penelitian ini, harus mendapatkan persetujuan dari orang tua atau wali dengan menandatangani surat persetujuan tertulis setelah menerima penjelasan *informed consent*.

Kolestasis pada bayi yaitu bayi yang menunjukkan gejala ikterus dengan kadar bilirubin terkonjugasi 20% dari kadar bilirubin total, apabila bilirubin total ≥ 5 mg/dL atau kadar bilirubin direk > 2 mg/dL apabila bilirubin total < 5 mg/dL.

Kadar IgM dan IgG HCMV diperoleh dari *The VIDAS CMV IgM and IgG Assay* (Biomerieux). Interpretasi IgM yaitu unit indeks IgM <0,7 negatif, $\leq 0,7 - 0,9$ equivocal, $\geq 0,9$ positif. Interpretasi IgG yaitu unit indeks IgG <4 negatif, $\geq 4 - <6$ equivokal, ≥ 6 positif.

Deteksi infeksi HCMV dilakukan dengan teknik nested PCR menggunakan primer MIE4/MIE5, kemudian dilanjutkan dengan primer IE1/IE2. PCR HCMV adalah hasil PCR konvensional HCMV dengan primer MIE4: 5'-CCA AGC GGC CTC TGA TAA CCA AGC C-3' dan MIE5: 5'-CAG CAC CAT CCT CCT CTT CCT CTG G-3' pada first round PCR dengan produk 435bp dan pasangan primer IE1: 5'- CCA CCC GTG GTG CCA GCT CC-3' dan IE2: 5'-CCC GCT CCT CCT GAG GAC CC-3' untuk second round PCR dengan produk 161bp.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu urin yang langsung digunakan PCR tanpa diekstraksi dan urin yang diekstraksi dulu. Sebanyak 200 μ l urin digunakan untuk ekstraksi DNA HCMV menggunakan Qamp DNA Mini Kit (Qiagen) dari sebanyak 200 μ l, prosedur ekstraksi DNA CMV dilakukan sesuai dengan protokol dalam kit tersebut. Urin yang langsung digunakan PCR yaitu sebanyak 4 μ l.

PCR menggunakan master mix PCR (Promega). Master mix reaksi untuk PCR DNA HCMV pada *first round* yaitu 10 μ l mastermix PCR (Promega), 1 μ l *primer forward* MIE4 10pmol, 1 μ l *primer reverse* MIE5 10pmol, 4 μ l ddH₂O, dan 4 μ l DNA *template*. Kondisi PCR yaitu pre denaturasi 94°C selama 5 menit, denaturasi 94°C selama 30 detik, penempelan primer 55°C selama 30 detik, extension 72°C selama 45 detik. Siklus PCR 40 x. *Final extension* 72°C selama 7 menit. Mastermix reaksi dan kondisi PCR untuk *second round* PCR yaitu sama dengan *first round* PCR, tetapi template sebanyak 1 μ l produk PCR *first round* dengan primer IE1/IE2. Hasil PCR dielektroforesis pada gel akrilamid 2% dan didokumentasikan.

Asosiasi antara hasil pemeriksaan PCR DNA HCMV dari urin yang ekstraksi dan tidak diekstraksi dengan serologis anti-HCMV pada bayi penderita kolestasis dilakukan dengan

Chi-square, jika berbeda nyata maka untuk mengetahui kekuatan hubungan dilihat coefficient contingency.

HASIL PENELITIAN

Bayi penderita kolestasis pada penelitian sebanyak 39 bayi penderita cholestasis, yang terdiri dari 17 bayi laki-laki dan 22 bayi wanita, berusia antara 1-12 bulan dengan (mean \pm SD = 3,44 \pm 2,326). Pasien terdiri dari 32 berusia dibawah 4 bulan dan 7 pasien berusia diatas 5 bulan. Kadar *direct/conjugated bilirubin* (D Bil) adalah 8.1221 \pm 4.15911 (mean \pm SD) dan *total bilirubin* (T Bil) adalah 11.1603 \pm 5.54247 (mean \pm SD) (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik bayi penderita kolestasis

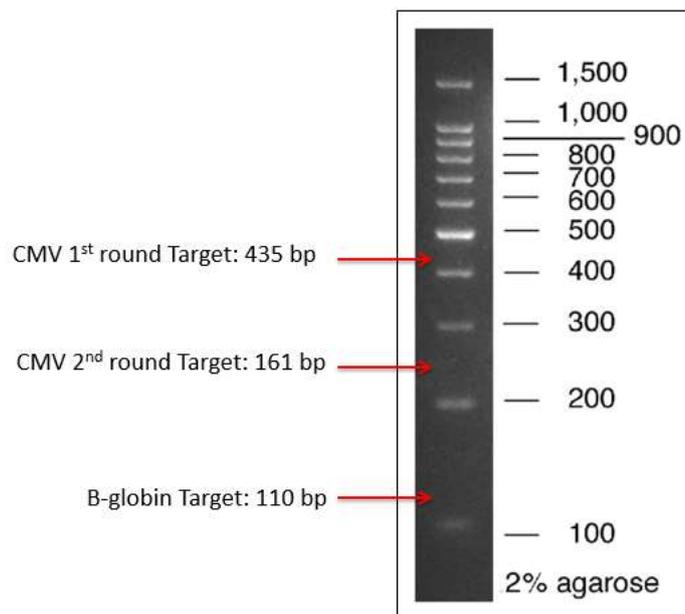
Karakteristik	
Age (mean \pm SD)	3,44 \pm 2,326
Age (n / %)	
1-2 month	18 (46.1 %)
3-4 month	14 (35.9%)
5-6 month	3 (7.7%)
>6 month	4 (10.3%)
Sex (n / %)	
Male	22 (56.4%)
Female	17 (43.6%)
Bilirubin index (mean \pm SD)	
D Bil	8.1221 \pm 4.15911
T Bil	11.1603 \pm 5.54247
Type Cholestasis n (%)	
Intrahepatic	23 (59%)
Extrahepatic	16 (41%)

Tabel 2. Hasil deteks infeksi HCMV secara serologis dari serum dan PCR dari urin

		n	Persentase
Serologis	IgM+	16	41.0%
	IgG+	35	89.7%
	IgM+, IgG+	16	41.0%
	IgM-, IgG+	19	48.7%
	IgM-, IgG-	4	10.3%
PCR Urin	Positif	34	87,2%
	Negatif	5	12,8%
PCR Direct Urin	Positif	19	48,7%
	Negatif	20	51,3%

Hasil pemeriksaan serologis menunjukkan bahwa 16/39 (41.0%) pasien positif IgM dan 35/39 (89.7%) pasien positif IgG. Hasil pemeriksaan serologi yang menunjukkan infeksi HCMV akut yang ditunjukkan dengan hasil serologis IgM+, IgG+ yaitu 16/39 (41.0%), pernah terinfeksi yang ditunjukkan oleh hasil serologis IgM- IgG+ yaitu 19/39 (48.7%), dan tidak pernah terinfeksi HCMV yang ditunjukkan oleh hasil serologis IgM- IgG- yaitu 4/39 (10.3%) (Tabel 2).

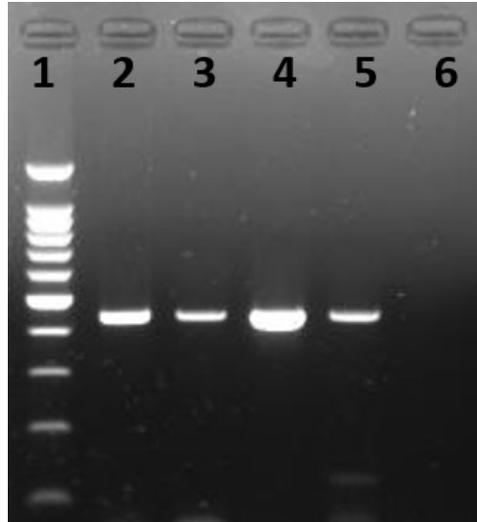
Hasil deteksi infeksi HCMV dengan teknik PCR konvensional pada sampel urin diekstraksi yaitu terdapat 34 (87,2%) pasien dengan hasil PCR positif dan 5 (12,8%) dengan hasil PCR negatif, dan dari urin langsung yaitu 19 (48,7%) pasien positif dan 20 (51,3%) pasien dengan hasil PCR negative (Gambar 1, Tabel 2).



Gambar 1. Posisi pita untuk hasil PCR betha Globin CMV first dan second round

Asosiasi hasil pemeriksaan serologis anti HCMV dengan pemeriksaan PCR urin yang diekstraksi pada bayi penderita cholestasis dilakukan dengan *Fisher's Exact Test*. Hasil menunjukkan bahwa terdapat asosiasi dengan nilai $p < 0.05$. *Coeficient contingency* berbeda bermakna dengan nilai 0,4 ($p = 0.024$). Hal ini menunjukkan kekuatan asosiasi sedang (moderate). Hal ini menunjukkan bahwa pasien bayi cholestasis akut yang ditunjukkan dengan hasil serologis IgM dan IgG positif menunjukkan bahwa semua pasien mempunyai hasil positif

PCR HCMV. Hal yang menarik yaitu hasil pemeriksaan serologis IgM dan IgG negatif, namun hasil PCR Urin positif. Hal tersebut mungkin disebabkan karena infeksi HCMV masih pada tahap awal sehingga masih belum ditemukan IgM dan IgG.



Gambar 4. Hasil deteksi infeksi HCMV dengan primer MIE4/MIE5 dari specimen biopsi liver. Lane 1= M, lane 2,3,4, 5 = sampel positif, lane 6 = kontrol negatif.

Tabel 3 Asosiasi hasil pemeriksaan serologis anti HCMV dengan pemeriksaan PCR urin yang diekstraksi dan langsung pada bayi penderita cholestasis

Pemeriksaan Serologis	PCR Urin		Total	Nilai p	Coefficient contingency
	Positif	Negatif			
IgM+, IgG+	16 (100.0%)	0	16 (100.0%)	0.028	0.4 (p = 0.024)
IgM-, IgG+	16 (84.2%)	3 (15.8%)	19 (100.0%)		
IgM-, IgG-	2 (50.0%)	2 (50.0%)	4 (100.0%)		
Total	34 (87.2%)	5 (12.8%)	39 (100.0%)		
PCR Direct Urin					
IgM+, IgG+	11 (68.8%)	5 (31.3%)	16 (100.0%)	0.035	0.383 (p = 0.035)
IgM-, IgG+	8 (42.1%)	11 (57.9%)	19 (100.0%)		
IgM-, IgG-	0 (0%)	4 (100.0%)	4 (100.0%)		
Total	19 (48.7%)	20 (51.3%)	39 (100.0%)		

Asosiasi hasil pemeriksaan serologis anti HCMV dengan pemeriksaan PCR urin yang langsung digunakan untuk PCR pada bayi penderita cholestasis dilakukan dengan *Fisher's Exact Test*. Hasil menunjukkan bahwa terdapat asosiasi antara hasil pemeriksaan serologis anti HCMV dengan pemeriksaan PCR urin secara langsung tanpa diekstraksi (direct Urin) pada

bayi penderita cholestasis ($p,0.05$) dengan *coefficient contingency* 0.383 yang berbeda bermakna ($p=0.035$). Hal ini menunjukkan kekuatan asosiasi sedang (moderate). Hasil ini menunjukkan bahwa pasien yang secara serologis negatif untuk IgM dan IgG, maka DNA virus tidak ditemukan di urin. Pada tahap awal infeksi, virus yang dieksresikan ke urin sangat sedikit sehingga tidak terdeteksi dengan PCR dari sampel urin direct tanpa diekstraksi.

Tabel 4. Hasil uji beda PCR HCMV dari urin yang diekstraksi dengan direct urin

Direct Urin	Extract Urin		Total	Nilai p
	Positif	Negatif		
Positif	19 (100%)	0 (0%)	19 (100%)	0,064
Negatif	15 (75%)	5 (25%)	20 (100%)	
Total	34 (87.2%)	5 (12.8%)	39 (100%)	

Perbedaan antara hasil PCR dari urin yang diekstraksi dan tidak diekstraksi (langsung) diuji dengan *Chi-square test*. Hasil uji Chi Square dengan *continuity correction* menunjukkan tidak terdapat perbedaan antara hasil PCR Urin dengan PCR Direct Urin ($p > 0,05$). Namun data tersebut menunjukkan bahwa hasil PCR direct urin 100% positif pada sampel dengan hasil PCR dari urin extract yang positif, sedangkan hasil PCR direct urin 75% hasil negative pada hasil PCR dari urin ekstrak positif dan 25% negative pada urin ekstrak dengan hasil negatif. Hal ini menunjukkan bahwa dalam menegakkan diagnosis infeksi HCMV dari sampel urin maka hasil yang lebih tepat jika digunakan sampel dari urin yang diekstraksi.

PEMBAHASAN

Kolestasis adalah penurunan atau terhambatnya aliran empedu pada setiap tingkatan ke saluran bilier ekstrahepatik dan duodenum. Gejala utama dari kolestasis adalah ikterus, tinja akholis, dan urin berwarna gelap. Pemeriksaan laboratorium menunjukkan peningkatan bilirubin terkonjugasi. Kolestasis didefinisikan sebagai kadar bilirubin terkonjugasi lebih dari 20% dari kadar bilirubin total jika kadar bilirubin total $> 5\text{mg/dl}$ atau kadar bilirubin direk lebih dari 2mg/dl apabila bilirubin total $< 5\text{mg/dl}$ (Davis, 2011; Rashed, 2013; Suchy F, 2004).

Kolestasis merupakan penyebab morbiditas dan mortalitas yang penting pada bayi dan anak. Ketidakmampuan untuk mendeteksi dan memonitor progresifitas kerusakan hati akan menghambat manajemen penyakit dengan kolestasis. Akumulasi dari asam empedu berdampak terjadinya hepatotoksisitas sehingga merupakan penyebab yang mendasari kelainan pada hati (Pereira, 2010; Ramm, 1998).

Penyebab kolestasis terbanyak adalah atresia bilier, infeksi, dan defisiensi α -1 antitripsin (Fischler, 2014). Atresia bilier ekstrahepatik adalah penyakit yang paling sering ditemukan, sekitar sepertiga dari kasus yang dilaporkan. *Inherited* kolestasis sekitar 10%-20%, 10% disebabkan karena defisiensi α -1 antitripsin, 20% karena *inborn errors of metabolism*, dan infeksi kongenital (TORCH) sekitar 5% (Suchy, 2004). Secara garis besar kolestasis dapat diklasifikasikan menjadi kolestasis ekstrahepatik yang merupakan obstruksi mekanis saluran empedu ekstrahepatik dan kolestasis intrahepatik yang disebabkan karena obstruksi saluran empedu intrahepatik dan adanya kelainan hepatosit (Arief, 2004).

Bayi diduga mengalami kolestasis jika *jaundice* tidak menghilang lebih dari usia dua minggu. Gejala kolestasis adalah tinja pucat, urin berwarna gelap, tidak gatal selama masa bayi, pembesaran hati, terkadang didapatkan splenomegali. Pada pemeriksaan laboratorium didapatkan hiperbilirubin khususnya *conjugated*, peningkatan *γ -glutamyl transferase* serta *alkaline phosphatase*. Pada kolestasis juga didapatkan malabsorpsi vitamin yang larut lemak serta defisiensi vitamin K1, pencetus timbulnya perdarahan. USG abdomen harus dilakukan pada semua bayi dengan kolestasis. Jika didapatkan tinja pucat yang permanen, biopsi hati atau *cholangiography* harus segera dilakukan untuk menyingkirkan atau mengkonfirmasi atresia bilier (Girard, 2008).

Cytomegalovirus atau *human cytomegalovirus* (HCMV) termasuk dalam *beta human herpesvirus type 5*. Dibandingkan dengan *human herpesvirus* yang lain, HCMV paling besar, dengan genom 235kb encoding 165 gene. Virion terdiri dari *double-stranded linear* DNA inti

dalam *icosahedral nucleocapsid*, dilindungi oleh *proteinaceous matrix* (gambar 2.5) (Crough, 2009). Infeksi CMV pada janin dan bayi merupakan masalah kesehatan yang penting di seluruh dunia. Di United States, CMV merupakan infeksi kongenital oleh virus yang paling sering ditemukan, sekitar 0,2%-2,5% dari seluruh kelahiran hidup. Infeksi oleh CMV ada dimana-mana, bisa terjadi pada semua populasi serta semua tingkat sosioekonomi setiap tahun tanpa dipengaruhi musim. CMV dapat diisolasi dari jaringan tubuh dan cairan tubuh seperti air mata, kelenjar ludah, ASI, urin, tinja, semen, sekresi mulut rahim, cairan ketuban, darah, serta transplantasi organ (Stehel, 2005). Gejala yang ditimbulkan dari infeksi kongenital pada masa bayi adalah mikrocephali (70%), penurunan nilai intelektual (60%), tuli (35%), korioretinitis (22%), hepatosplenomegali (70%), *jaundice* (68%), trombositopeni (65%), berat badan lahir rendah (65%), *pneumonitis* (2-5%) serta kelainan jantung (<5%) (Bhatia, 2010).

CMV diduga sebagai salah satu penyebab kolestasis, sekitar 1%-2,4% infeksi CMV pada bayi baru lahir di Amerika Utara (Oliveira, 2002). Prevalensi CMV pada penderita kolestasis intrahepatik pada masa bayi berkisar (5%-46%) tergantung dari metode diagnostik yang digunakan (Brandao, 2009). Penelitian di China pada 85 penderita neonatal kolestasis setelah operasi Kasai portoenterostomi didapatkan 65% DNA CMV pada spesimen biopsi jaringan duktus biliaris (Xu Y, 2012). Penelitian di Brasil tahun 2001 menunjukkan prevalensi infeksi CMV tinggi pada satu tahun pertama kehidupan (Almeida, 2001).

Diagnosa infeksi CMV pada bayi tergantung adanya virus, yang dapat diisolasi di urin (teknik kultur), deteksi IgM pada darah (serologi tes), deteksi antigen CMV (*antigenemia assay*) pada sampel darah serta identifikasi CMV-DNA pada sampel dengan teknik PCR (Bhatia, 2010). Tes serologi sangat berguna untuk menentukan apakah penderita mengalami infeksi CMV pada masa lampau, dengan melihat ada atau tidak ada IgG CMV. Deteksi antibodi IgM digunakan sebagai indikator adanya infeksi akut atau infeksi baru (Ross, 2011). Saat ini metode pemeriksaan serologi yang banyak digunakan untuk diagnosis serologi CMV adalah

ELISA (Lequin, 2005). Metode ini dapat mendeteksi adanya antibodi IgM dan IgG spesifik anti CMV dalam sirkulasi (Gehrz, 1982; Sinclair, 2006). Serologi memiliki akurasi yang rendah (59%) untuk mendeteksi infeksi HCMV aktif dengan sensitivitas dan spesifisitas, 54% dan 61% (Tomasso, 2005).

Hasil pemeriksaan serologis menunjukkan bahwa 16/39 (41.0%) pasien positif IgM dan 35/39 (89.7%) pasien positif IgG. Hasil pemeriksaan serologi yang menunjukkan infeksi HCMV akut yang ditunjukkan dengan hasil serologis IgM+, IgG+ yaitu 16/39 (41.0%), pernah terinfeksi yang ditunjukkan oleh hasil serologis IgM- IgG+ yaitu 19/39 (48.7%), dan tidak pernah terinfeksi HCMV yang ditunjukkan oleh hasil serologis IgM- IgG- yaitu 4/39 (10.3%).

Pemeriksaan PCR merupakan metode untuk mendeteksi virologik yang berguna dalam menegakkan diagnosa penyakit virus karena kemampuan untuk mendeteksi DNA virus bahkan dalam jumlah yang sangat minimal. Bahan yang digunakan untuk pemeriksaan PCR antara lain urin, darah, air ludah, cairan liquor, cairan amnion, dan jaringan (Soetens, 2008; Goegebuier, 2009). Hasil deteksi infeksi HCMV dengan teknik PCR konvensional pada sampel urin diekstraksi yaitu terdapat 34 (87,2%) pasien dengan hasil PCR positif dan 5 (12,8%) dengan hasil PCR negatif, dan dari urin langsung yaitu 19 (48,7%) pasien positif dan 20 (51,3%) pasien dengan hasil PCR negative.

Hasil pemeriksaan serologis anti HCMV berasosiasi moderate yang berbeda bermakna nilai 0,4 ($p=0.024$) dengan pemeriksaan PCR urin yang diekstraksi pada bayi penderita cholestasis. Hal ini menunjukkan bahwa pasien bayi cholestasis akut yang ditunjukkan dengan hasil serologis IgM dan IgG positif menunjukkan bahwa semua pasien mempunyai hasil positif PCR HCMV. Hal yang menarik yaitu hasil pemeriksaan serologis IgM dan IgG negatif, namun hasil PCR Urin positif. hal tersebut mungkin disebabkan karena infeksi HCMV masih pada tahap awal sehingga masih belum ditemukan IgM dan IgG.

Hasil pemeriksaan serologis anti-HCMV berasosiasi moderate yang berbeda secara bermakna nilai 0.0383 ($p=0,035$) dengan pemeriksaan PCR urin yang langsung digunakan untuk PCR pada bayi penderita cholestasis. Hal ini menunjukkan kekuatan asosiasi sedang (moderate). Hasil ini menunjukkan bahwa pasien yang secara serologis negatif untuk IgM dan IgG, maka DNA virus tidak ditemukan di urin. Pada tahap awal infeksi, virus yang dieksresikan ke urin sangat sedikit sehingga tidak terdeteksi dengan PCR dari sampel urin direct tanpa diekstraksi.

Tidak terdapat perbedaan antara indentifikasi infeksi HCMV dengan teknik PCR konvensional dari sampel urin yang diekstraksi dan tidak diekstraksi (langsung) pada bayi penderita kolestasis. Hasil PCR direct urin 100% positif pada sampel dengan hasil PCR dari urin extract yang positif, sedangkan hasil PCR direct urin 75% negatif pada hasil PCR dari urin ekstrak dengan hasil PCR positif dan 25% negative pada urin ekstrak dengan hasil PCR negatif. Hal ini menunjukkan bahwa dalam menegakkan diagnosis infeksi HCMV dari sampel urin maka hasil yang lebih tepat jika digunakan sampel dari urin yang diekstraksi.

CMV masuk ke dalam sel dengan cara endositik, virus akan terikat dengan sel melalui interaksi antar sel dengan glikoprotein virus (gB dan gH) dan terikat pada reseptor spesifik yang ada di permukaan sel inang (*platelet-derived growth factor α*). Kemudian virus menembus membran sel, selubung virus terlepas, dan nucleocapsid masuk ke sitoplasma sel. Nucleocapsid menuju inti sel serta melepaskan DNA ke dalam inti sel. Kemudian terjadi inisiasi dari ekspresi gen IE-1 dan IE-2 yang menstimulasi terjadinya replikasi dan maturasi DNA virus. Proses maturasi membentuk capsid kembali dan akan ditransportasikan keluar inti sel menuju sitoplasma. Di dalam sitoplasma akan terjadi pembentukan selubung virus lagi oleh retikulum endoplasma dan badan golgi. Selanjutnya akan terbentuk virion CMV dan dilepaskan keluar sel melalui proses eksositosis. Siklus replikasi HCMV termasuk lambat, keseluruhan proses replikasi memerlukan waktu 48-72jam (Crough, 2009).

Infeksi CMV pada janin dan bayi merupakan masalah kesehatan yang penting di seluruh dunia. Di United States, CMV merupakan infeksi kongenital oleh virus yang paling sering ditemukan, sekitar 0,2%-2,5% dari seluruh kelahiran hidup. Infeksi oleh CMV ada dimana-mana, bisa terjadi pada semua populasi serta semua tingkat sosioekonomi setiap tahun tanpa dipengaruhi musim. CMV dapat diisolasi dari jaringan tubuh dan cairan tubuh seperti air mata, kelenjar ludah, ASI, urin, tinja, semen, sekresi mulut rahim, cairan ketuban, darah, serta transplantasi organ (Stehel, 2005). Gejala yang ditimbulkan dari infeksi kongenital pada masa bayi adalah mikrocephali (70%), penurunan nilai intelektual (60%), tuli (35%), korioretinitis (22%), hepatosplenomegali (70%), *jaundice* (68%), trombositopeni (65%), berat badan lahir rendah (65%), *pneumonitis* (2-5%) serta kelainan jantung (<5%) (Bhatia, 2010). CMV diduga sebagai salah satu penyebab kolestasis, sekitar 1%-2,4% infeksi CMV pada bayi baru lahir di Amerika Utara (Oliveira, 2002). Prevalensi CMV pada penderita kolestasis intrahepatik pada masa bayi berkisar (5%-46%) tergantung dari metode diagnostik yang digunakan (Brandao, 2009). Penelitian di China pada 85 penderita neonatal kolestasis setelah operasi Kasai portoenterostomi didapatkan 65% DNA CMV pada spesimen biopsi jaringan duktus biliaris (Xu Y, 2012). Penelitian di Brasil tahun 2001 menunjukkan prevalensi infeksi CMV tinggi pada satu tahun pertama kehidupan (Almeida, 2001).

CMV dapat ditularkan ke janin atau bayi karena infeksi primer ibu, rekurens atau reaktivasi infeksi, atau reinfeksi dengan strain CMV yang berbeda yang sebelumnya sudah pernah menginfeksi ibu. Berdasarkan waktu terjadinya infeksi CMV pada janin atau bayi, penularan CMV terbagi menjadi masa prenatal, natal atau post natal (Stehel, 2005).

Infeksi prenatal atau infeksi kongenital terjadi didalam rahim melalui *transplacental*, penyebaran secara hematogen selama proses viremia pada ibu. Infeksi pada janin bisa terjadi dan bertambah berat setelah infeksi primer pada ibu kemudian setelah reaktivasi infeksi laten dari ibu. Insiden infeksi CMV primer yang didapat selama kehamilan berkisar 1%-4% dan

resiko kejadian infeksi kongenital sebesar 40%. Sekitar 10%-15% bayi yang terinfeksi CMV menunjukkan gejala klinis/simptomatis (Stehel, 2005).

Infeksi perinatal atau natal terjadi melalui dua cara yaitu sekret vagina dan air susu yang mengandung virus CMV. Infeksi perinatal lebih sering terjadi dibandingkan infeksi kongenital, sumber infeksi utama adalah kontak dengan sekret vagina selama persalinan serta melalui air susu (Leila, 2002). Sekitar 2%-28% wanita hamil yang positif CMV pada cairan mulut rahim atau cairan vagina selama proses kelahiran. Sekitar 50% bayi yang terpapar menjadi terinfeksi CMV serta menunjukkan gejala klinis saat usia empat sampai enam minggu (Stehel, 2005).

Infeksi CMV pada post natal yaitu terjadi penularan CMV ibu ke bayi terjadi selama masa menyusui karena 9%-88% wanita positif CMV pada air susu ibu. Sekitar 50%-60% bayi yang mendapatkan ASI yang mengandung CMV menjadi terinfeksi (Stehel, 2005). Kejadian kolestasis neonatal melalui transmisi postnatal lebih jarang dibandingkan melalui transmisi yang lain, sekitar 10% melalui [transfusi darah yang teinfeksi \(Kim, 2010; Fischer 2010\)](#).

KESIMPULAN

Hasil pemeriksaan serologis anti-HCMV menunjukkan asosiasi moderate yang berbeda secara bermakna dengan pemeriksaan PCR urin diekstraksi dan urin tanpa diekstraksi (direct Urin) pada bayi penderita cholestasis. Hal ini menunjukkan bahwa pemeriksaan serologis dan PCR tidak bias saling menggantikan. Tampaknya pemeriksaan PCR lebih sensitif daripada pemeriksaan serologis yang ditunjukkan pada kelompok hasil serologis IgM-, IgG-, tetapi hasil PCR dari urin yang diekstraksi masih menunjukkan hasil positif. Hasil PCR HCMV dari sampel urin yang diekstraksi dan urin tanpa diekstraksi (direct Urin) pada bayi penderita cholestasis tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna sehingga dalam menegakkan diagnosis infeksi HCMV sebaiknya dilakukan dari sampel urin yang diekstraksi.

DAFTAR PUSTAKA

Almeida LN, Azevedo RS dan Amaku M, 2001. Cytomegalovirus seroepidemiology in an urban community of sao Paulo, brazil. *Rev Saude Publica*, 35, 124-9.

- Amarapal P, Tantivanich S, Pengsa K, Chotekiate U, Kaolueng S, Balachandra K, Janeprasert J dan Samkosade R, 2001. Rapid diagnosis of cytomegalovirus infection in congenital neonates. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 32, 154-7.
- Bhatia P, Narang A dan Minz RW, 2010. Neonatal cytomegalovirus infection: diagnostic modalities available for early disease detection. *Indian J Pediatr*, 77, 77-9
- Boppana SB, Ross SA, Shimamura M, Palmer AL, Ahmed A dan Michaels MG, 2011. Saliva Polymerase-Chain-Reaction Assay for Cytomegalovirus Screening in Newborns. *The New England journal of medicine*, 364, 2111-8
- Brandao MA, Andrade PD, Costa S, Escanhoela C, Vassallo J, Porta G, Tomasso A dan Hessel G, 2009. Cytomegalovirus frequency in neonatal intrahepatic cholestasis determined by serology, histology, immunohistochemistry, and PCR. *World J Gastroenterol*, 15, 3411-6.
- Chang MH, Huang HH, Huang ES, Kao CL, Hsu HY dan Lee CY, 1992. Polymerase chain reaction to detect human cytomegalovirus in livers of infants with neonatal hepatitis. *Gastroenterology*, 103, 1022-5.
- Davis AR, Rosenthal P, Escobar GJ dan Newman TB, 2011. Interpreting conjugated bilirubin levels in newborns. *J Pediatr*, 158, 562-5.
- De Tommaso AM, Andrade PD, Costa SC, Escanhoela CA dan Hessel G, 2005. High frequency of Human Cytomegalovirus DNA in the Liver of Infants with Extrahepatic Neonatal Cholestasis. *BMC Infectious Diseases*, 5, 108.
- Feldman AG and Sokol RJ. 2013. Neonatal Cholestasis Neoreviews. 2013 Feb 1; 14(2): 10.1542/neo.14-2-e63.
- Fischer C, Meylan D dan Graz MB, 2010. Severe postnatally acquired cytomegalovirus infection presenting with colitis, pneumonitis, and sepsis-like syndrome in an extremely low birth weight infant. *Neonatology*, 97, 339-45
- Fischler B dan Lamireau T. Cholestasis in the newborn and infant, 2014. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 38, 263-7.
- Gehrz RC, Linner KM dan Christianson, 1982. Cytomegalovirus infection in infancy: virological and immunological studies. *Clin Exp Immunol*, 47, 27-33.
- Girard M dan Lacaille F, 2008. Diagnosis of neonatal cholestasis. *Ann Nestle*, 66, 109-20
- Goegebuer T, Mensel BV dan Beuselinck K, 2009. Clinical predictive value of real-time PCR quantification of human cytomegalovirus DNA in amniotic fluid samples. *J Clin Microbiol*, 47, 660-5.
- Griffiths PD dan Grundy JE, 1987. Molecular biology and immunology of cytomegalovirus. *J Biochem*, 241, 313-24.
- James K, 1990. Immunoserology of infectious diseases. *Clin Microbiol Rev*, 3, 132-52
- Kim CS, 2010. Congenital and perinatal cytomegalovirus infection. *Korean J Pediatr*, 53, 14-20.
- Lanari M, Lazzarotto T, Venturi V, Papa I, Gabrielli L dan Guerra B, 2006. Neonatal cytomegalovirus blood load and risk of sequelae in symptomatic and asymptomatic congenitally infected newborns. *Pediatrics*, 117, e76-83.
- Landry ML dan Ferquson D, 1993. Comparison of quantitative cytomegalovirus antigenemia assay with culture methods and correlation with clinical disease. *J Clin Microbiol*, 31, 2851-6.

- LaSala PR, Yarsa J dan Nguyen W, 2009. Evaluation of abbreviated protocol for cytomegalovirus pp65 antigenemia testing. *Am J Clin Pathol*, 131, 526-31.
- Lazzarotto T, Guerra B, Spezzacatena P, Varani S, Gabrielli L dan Pradelli P, 1998. Prenatal Diagnosis of Congenital Cytomegalovirus Infection. *J Clin Microbiol*, 36, 3540-4.
- Leila N, 2002. Infection by cytomegalovirus in patients with neonatal cholestasis. *Arq Gastroenterol*, 39, 132-6.
- Lequin RM, 2005. Enzyme immunoassay (EIA)/ enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), 51, 434-9
- Oliviera NL, Kanawaty FR, Costa S dan Hessel G, 2002. Infection by cytomegalovirus in patients with neonatal cholestasis. *Arq de Gastroenterol*, 39, 132-6.
- Pawłowska JE, Dorota G, Irena J, Przemysław K, Bożena C dan Katarzyna D, 2010. The role of cytomegalovirus infection in pathogenesis of neonatal cholestasis. *Experimental & Clinical Hepatology*, 6, 25-9.
- Pereira TN, Walsh MJ, Lewindon PJ dan Ramm GA, 2010. Paediatric cholestatic liver disease: Diagnosis, assessment of disease progression and mechanisms of fibrogenesis. *World J Gastrointest Pathophysiol*, 1, 69-84.
- Poddar U, Thapa BR, Das A, Bhattacharya A, Rao KLN dan Singh K, 2009. Neonatal cholestasis: differentiation of biliary atresia from neonatal hepatitis in a developing country. *Acta Pædiatrica*, 98, 1260-4.
- Ramm GA, Nair VG, Bridle KR, Shepherd RW dan Crawford DH, 1998. Contribution of hepatic parenchymal and nonparenchymal cells to hepatic fibrogenesis in biliary atresia. *Am J Pathol*, 153, 527-35.
- Rashed YK, Saber MA, Tawfik M dan Mourad WS, 2013. Histopathological features and accuracy for diagnosing biliary atresia by prelaparotomy liver biopsy in Egypt. *Egyptian Ped Asc Gazette*, 61, 42-5.
- Rastogi A, Krishnani N, Yachha SK, Khanna V, Poddar U dan Lal R, 2008. Histopathological features and accuracy for diagnosing biliary atresia by prelaparotomy liver biopsy in developing countries. *J Gastroenterol Hepatol*, 24, 97-102.
- Ross S, Novak Z, Pati S dan Boppana S, 2011. Diagnosis of Cytomegalovirus Infections. *Infect Disord Drug Targets*, 11, 466-74.
- Schleiss MR, 2013. Cytomegalovirus in the neonate: immune correlates of infection and protection. *Immunol Rev*, 1-14.
- Sinclair J dan Sissons P, 2006. Latency and reactivation of human cytomegalovirus. *J Gen Virol*, 87, 1763-79.
- Sira MM, Sira AM, Elhenawy IA dan Khalil FO, 2016. Prevalence of serological markers of TORCH infections in Biliary atresia and other neonatal cholestatic disorders. *Peertechz J Pediatr Ther*, 2(1), 013-7.
- Soetens O, Fellous CV dan Foulun I, 2008. Evaluation of different cytomegalovirus (CMV) DNA PCR protocols for analysis of dried blood spots from consecutive cases of neonates with congenital CMV infections. *J Clin Microbiol*, 46, 943-6.
- Stehel EK dan Sánchez PJ, 2005. Cytomegalovirus infection in the fetus and neonate. *NeoReviews*, 6, e38-e45.
- Suchy FJ, 2004. Neonatal cholestasis. *Pediatr Rev*, 25, 388-96.

- Swanson EC dan Schleiss MR, 2013. Congenital Cytomegalovirus infection: new prospects for prevention and therapy. *Pediatr Clin North Am*, 60, 1-17
- Tezer H, Secmeer G, Kara A, Ceyhan M, Cengiz AB dan Devrim I, 2008. Cytomegalovirus hepatitis and ganciclovir treatment in immunocompetent children. *Turk J Pediatr*, 50, 228-34.
- Vancikova Z, Kucerova T, Pelikan L, Zikmundova L dan Priglova M, 2004. Perinatal cytomegalovirus hepatitis: to treat or not to treat with ganciclovir. *J Paediatr Child Health*, 40, 444-8.
- Xu Y, Yu J, Zhang R, Yin Y, Ye J dan Tan L, 2012. The perinatal infection of cytomegalovirus is an important etiology for biliary atresia in China. *Clin Pediatr (Phila)*, 51, 109-13.
- Zhang S, Zhou Y-H, Li L dan Hu Y, 2010. Monitoring human cytomegalovirus infection with nested PCR: comparison of positive rates in plasma and leukocytes and with quantitative PCR. *Virology Journal*, 7, 73.