

Penggunaan Plastik Polypropilen Sebagai Pengganti Safety Box di Laboratorium BIO SAFETY LEVEL II

Soeyati Poejiani^{1,*}

¹Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang 65144.

*Corresponding author. E-mail: ucik.fk@ub.ac.id

Submisi: 18 Agustus 2023; Penerimaan: 29 September 2023

ABSTRAK

Plastik Polypropilen merupakan bahan plastik yang mempunyai sifat tahan panas sehingga mampu mencegah terjadinya reaksi kimia. Plastik polypropilen ini bisa digunakan sebagai pengganti safety box karena murah harganya dan mudah di dapat. Tujuan penelitian ini mengetahui plastik polypropilen dapat digunakan sebagai wadah pembuangan sementara limbah Corona Virus Disease 2019 (Covid-19) selama bekerja di laboratorium Biosafety Level II (BSL II). Penelitian ini merupakan eksperimental laboratoris dengan menggunakan sampel diduga covid-19 dengan metode pre destruksi dan post destruksi. Pengamatan dilakukan ada tidaknya gen target dengan menggunakan Real Time Polymerase Reaction (Rt-PCR). Berdasarkan penelitian ini penggunaan plastik polypropilen untuk wadah sementara selama bekerja di BSL II pada proses pre destruksi ditemukannya gen target atau positif. Setelah dilakukan post destruksi tidak ditemukan adanya gen target atau negatif. Data pengujian dianalisis menggunakan Bio-Rad CFX

Kata kunci: Polypropilen; destruksi; limbah Covid-19

PENDAHULUAN

Akhir tahun 2019 sampai sekarang, Indonesia berupaya menangani wabah Corona Virus Disease 2019 (Covid-19). Limbah medis dalam penanganan wabah ini tidak boleh dilupakan karena bersifat *infeksius* selama pengerjaan sampel di dalam laboratorium Biosafety Level II (BSL II). Pembuangan limbah medis merupakan salah satu penyebaran infeksi sehingga diperlukan penanganan pembuangan limbah yang baik. Kurang lebih 4 juta anak dan 2-5 juta orang dewasa setiap tahunnya sakit dikarena limbah yang tidak dikelola dengan baik, sehingga menyebabkan kematian (WHO, 2018).

Proses pengerjaan sampel Covid-19 di dalam BSL II memerlukan wadah sementara untuk pembuangan limbah *infeksius* sebelum dilakukan proses *destruksi*. Wadah limbah yang biasa digunakan adalah *safety box*. Akan tetapi penggunaan *safety box* ini mempunyai

kelemahan karena ukurannya kecil sehingga tidak semua limbah *infeksius* bisa dimasukkan dalam *safety box* dan harganya relatif mahal sehingga penggunaan *safety box* bisa diganti dengan plastik *polypropilene*. Sulchan, dkk (2007) menyatakan bahwa kelebihan plastik *polypropilen* harganya tidak mahal, banyak di jual di toko-toko, sebagai pengemas makanan, mudah di dapat, mempunyai berbagai ukuran tergantung kebutuhan yang dipakai.

Plastik banyak digunakan dalam kehidupan manusia karena memiliki keunggulan yaitu ringan, mudah di dapat, transparan dan harganya relatif murah. Ada beberapa jenis kelemahan plastik yaitu tidak tahan panas, *non biogradable* (alami), tidak bisa dihancurkan dengan cepat (Latif, 2000). Jenis plastik yang banyak beredar dikelompokkan berdasarkan bahan penyusunnya yaitu Polyethylene (PE), PolyVinyl Chloride (PVC), PolyMethyl Methacrylate (PMMA), Acrylonitrile Butadiene Styrene

(ABS), *Polyamide* (PA), *Polyester* dan *PolyEthylene Terephthalate* (PET) dan *Poly Propylene* (PP) (Nurminah, 2012). Salah satu jenis plastik yang sering digunakan karena memiliki sifat tahan panas adalah plastik *Polypropilen* (Sahwan, 2005).

Pembuangan sampah limbah medis seperti jarum suntik sekali pakai yang telah dipakai oleh pasien biasanya dibuang dalam *safety box*. Standar *safety box* di rumah sakit digunakan sebagai tempat penampungan sementara limbah medis karena hanya boleh digunakan satu kali pakai dan tidak boleh di daur ulang. *Safety box* yang telah berisi limbah padat dipindahkan ke tempat pembuangan limbah untuk di bakar pada *insinerator* yang mempunyai suhu pembakaran 1000°C. *Safety box* dengan volume 5 liter terbuat dari bahan *duplex* tebal yang tahan terhadap tusukan namun kelemahan *safety box* tidak dapat menampung limbah yang bersifat cair

Istini (2010) melakukan penelitian percobaan sterilisasi peralatan kultur sel dengan menggunakan plastik *polypropilen* sebagai wadah tip yang di autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit memberikan hasil tidak terjadi kontaminasi.

Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan pemanfaatan plastik *polypropilen* sebagai wadah sementara limbah sampel *Covid-19* selama bekerja di BSL II.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan pada bulan Maret 2021. Penelitian ini dikerjakan di Laboratorium *Biosafety Level II* Rumah Sakit Akademik Universitas Brawijaya Malang.

Alat dan Instrumentasi

Penggunaan alat untuk penelitian ini meliputi pipet mikro (*Eppendorf*)

dengan ukuran 200µl-1000µl, 20µl-200µl, 0,5µl-10µl, *Biosafety Cabinet II* (*Esco*) , *Laminary Air Flow* (*Heraeus*), Autoklaf (*Tommy*), *Hot Block* (*Thermo*), *Vortex* (*IKA 3*), mesin CFX96 *Real-Time System* (*BioRad*).

Bahan yang digunakan adalah plastik polypropilen ukuran 5-10 kg, *safety box*, rak tabung 2 ml, alkohol 70%, klorin 5%, Kit ekstraksi RNA virus (*Liferiver Biotech*), Real Time Multiplex RT-PCR Kit (*Bio Farma dan Biosensor*) , sampel diduga covid-19, tabung 1,5 ml, *cryotube* 2 ml, ujung pipet mikro ukuran 200µl-1000µl, 20µl-200µl, 0,5µl-10µl, aquades, *q-pcr well plate*, *handscone nitril*, masker, *scored*, isolasi kertas, *face mask*, *head cup*, *cover shoes*, *cryo tube* 2 ml dan 5 ml, *Virus Transpor Medium* (VTM)

Metode Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan eksperimental laboratoris dengan metode *pre destruksi* dan *post destruksi*. Variabel bebas yang digunakan adalah pengambilan sampel diduga covid-19 sebanyak 6 sampel. Pada proses *pre destruksi* masing-masing sampel dilakukan ekstraksi RNA yang didapatkan sebagai *template* RNA. Sisa dari ke enam sampel diduga covid 19 dimasukkan dalam plastik *polypropilen* untuk dilakukan *post destruksi*. Cairan sampel diduga covid 19 *post destruksi* dilakukan ekstraksi RNA. RNA yang dihasilkan dari proses ekstraksi *pre* dan *pos destruksi* di analisis menggunakan Bio-Rad CFX yang merupakan variabel terikat.

Uji hipotesis pada penelitian ini untuk mengetahui penggunaan plastik polypropilen dapat menggantikan *safety box* sebagai wadah sementara limbah covid-19 selama bekerja di laboratorium BSL II. Data hasil penelitian dianalisis menggunakan Bio-Rad CFX untuk mengamati ada tidaknya gen target pada *pre* dan *post destruksi*.

Ekstraksi RNA Pre Destruksi

Proses ekstraksi RNA menggunakan Kit ekstraksi RNA *Liferiver Biotech* dan dilakukan di *Biosafety cabinet* dengan cara mengambil sampel diduga covid sebanyak 300 µl dan 1 kontrol positif (Human RNase) serta kontrol negatif (DEPC-H₂O). Masing-masing sampel ditambahkan 600 µl *Lysis buffer* ke dalam *screw cap tube* yang telah diberi label sesuai dengan kode sampel. Sebanyak 20 µl *Proteinase K* dan 1 µl *Internal Control* di *vortex* dan inkubasi pada suhu 56°C selama 10 menit. Setelah inkubasi masukkan 600 µl *absolute ethanol* dan *vortex* selama 2 menit. Setelah cairan *solusi* homogen dimasukkan ke dalam *binding column* dengan cara dipasangkan dengan 2 ml *Collection tube*. Sentrifus *binding column* yang telah berisi cairan *solusi* dan *absolute ethanol* selama 1 menit, dengan kecepatan 12.000 rpm, *supernatan* yang ada pada bagian bawah *collection tube* dibuang. Jika cairan *solusi* dan *absolute ethanol* sudah habis maka tambahkan sebanyak 500 µl *washing buffer A* dan *Washing buffer W*. Setelah penambahan masing-masing *washing buffer A* dan *washing buffer W*, *solusi* dalam *collection tube* disentrifus selama 1 menit, dengan kecepatan 12.000 rpm. *Drying step* dilakukan dengan cara *supernatan* pada *collection tube* yang sudah dibuang disentrifus selama 3 menit, 12.000 rpm. Angin-anginkan *Binding column* pada suhu ruang selama 3 menit agar *membrane* benar-benar kering. Pada bagian tengah *membrane* diisi dengan 50 µl *elution buffer*, diamkan selama 5 menit pada suhu ruang. Apabila *membrane* sudah kering, pindahkan membran yang telah berisi *elution buffer* pada tube 1,5 ml kemudian di sentrifuge selama 1 menit, dengan kecepatan 12.000 rpm.

Quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain reaction (RT-qPCR)

Sebelum mengerjakan *Master Mix (Bio Farma)* sebaiknya mencairkan semua *kit reagen* dalam suhu kamar kemudian *kit reagen* di *spin down* agar cairan *kit reagen* berkumpul di bagian bawah *tube*. *Master Mix* yang berisi masing-masing *N2/RdRP/RPP30* dengan komposisi *One Step Mix* 10 µl, *Reverse Transkripsi* 0,2 µl, *RNase inhibitor* : 0,4 µl, *Reaction Mix (N2/RdRp/RPP30)* 1,5 µl; DEPC-H₂O 2,9 µl sehingga jumlah keseluruhan *Master mix* adalah 15 µl untuk pereaksi, setelah semua *Master Mix* tercampur secara homogen, masing-masing *PCR tube* diisi 15 µl, 5 µl DEPC-H₂O (sebagai *Negative Control/NTC*) ke dalam *well* yang ditentukan, 5 µl *Positive Control* dan *Human RNase Positive Control* ke dalam *well* yang ditentukan, 5 µl *RNA template* ke dalam *well* yang ditentukan. *Master Mix* dan *Template* berkumpul di dasar *PCR tube* di *spin down* kembali agar terkumpul di dasar *tube*. *Well PCR* dimasukkan dalam mesin PCR dan di *running* sesuai program.

Seperti *Master Mix (Bio Farma)*, sebaiknya *master mix (Bio sensor)* sebelum digunakan dicairkan terlebih dahulu dalam suhu ruang dan dilakukan *spin down*. *Master mix* yang berisi 14 µl dan *Rtase Mix* 6 µl, sehingga total *master mix* adalah 20 µl pereaksi. Setelah *master mix* tercampur secara homogen, masukkan *master mix* sebanyak 20 µl ke dalam *PCR tube*. Tambahkan 9 µl *Positive control* + 1 µl *Internal control (IC)* ke dalam *tube* (dilabel PC). Masukkan 10 µl *RNA template/Negative Control*, pastikan *Master mix* dan *template* terkumpul di dasar *PCR tube* dengan cara di *spin down*. *Well PCR* dimasukkan dalam mesin PCR dan di *running* sesuai program.

Ekstraksi RNA Post Destruksi

Masing-masing sampel diduga covid yang telah dilakukan uji *pre destruksi* dan di peroleh *gen target*

positif, maka masing-masing sampel dan bahan limbah yang telah terkontaminasi dengan sampel covid dimasukkan dalam plastik *polypropilen* dan diberi media VTM (*Viral Transport Medium*) untuk dilakukan *destruksi* dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C, tekanan sebesar 1,5 atm selama 15 menit. Sampel yang sudah *didestruksi* dilakukan ekstraksi RNA dan *Quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain reaction* (RT-qPCR).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil *Pre destruksi* dengan 6 sampel diduga covid dan Kontrol Positif serta Kontrol Negatif setelah proses ekstraksi RNA dan *Quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain reaction* (RT-qPCR) ditemukan adanya target gen dengan nilai yang sama pada Kontrol Positif, sedangkan pada Kontrol Negatif tidak ditemukan adanya target gen

(Tabel 1). Empat sampel dengan hasil positif pada kode ulangan 1, 2, 3, 5 rerata nilai ambang siklus atau nilai Ct pada *gen* N2 dan *gen* RdRp bervariasi mulai dari siklus 32,57 sampai 39,89 (Gambar 1). Sedangkan pada sampel kode ulangan 6 dengan hasil diduga positif dikarenakan munculnya *gen* N2 namun tidak ditemukan *gen* RdRp. *Gen* RdRp merupakan kontrol *gen* karena *gen* ini terdapat pada manusia. Gambar 2 merupakan grafik yang menunjukkan sampel dengan hasil negatif setelah grafik dipisahkan dari Gambar 1, ditandai dengan grafik yang tidak dapat mencapai garis *trace hold*. Hasil negatif ini berupa garis tidak lurus yang sejajar dengan nilai *Riverence Unit* (RFU) atau intensitas fluoresen pada titik 0. Garis *trace hold* dalam Gambar 2 berupa garis lurus berwarna biru. Sedangkan grafik dengan hasil positif ada pada Gambar 3 setelah dipisahkan dari Gambar 1.

Tabel 1. Hasil sampel covid *pre-destruksi*

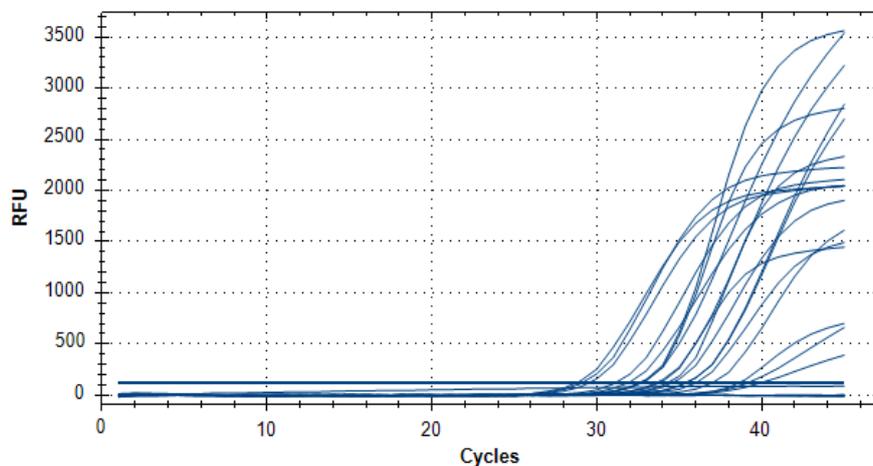
No	Kode Ulang NoSampel	Nilai Cq			Hasil
		FAM N2 gen	FAM RdRP gen	FAM RPP30	
1	Negatif Kontrol	N/A	N/A	N/A	
2	Positif Kontrol	32,57	32,53	31,85	
3	1	35,36	33,76	28,72	Positif
4	2	33,56	32,68	29,08	Positif
5	3	35,34	34,25	31,09	Positif
6	4	N/A	N/A	36,99	Negatif
7	5	39,89	38,58	36,00	Positif
8	6	39,12	N/A	3,51	Diduga Positif

Keterangan:

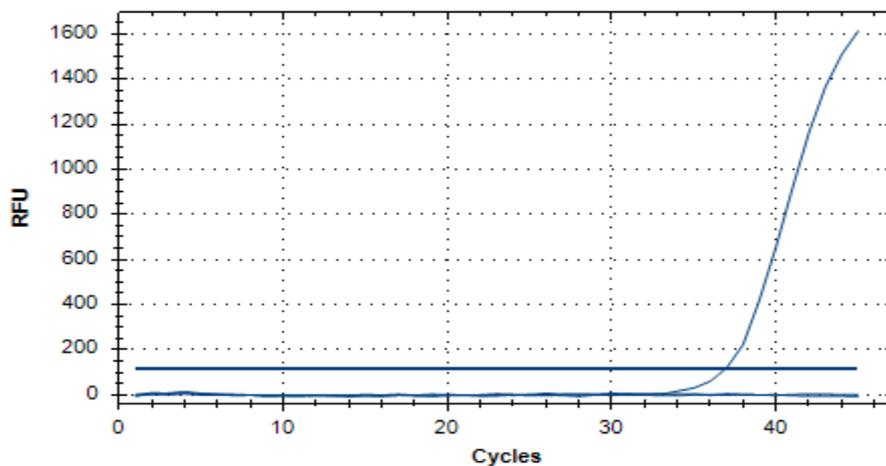
Nilai Cq didapat dari jumlah siklus pada proses PCR yang berpotongan dengan garis *threshold*. FAM kepanjangan dari *fluorescein midites* adalah pelengkap pewarna fluoresen yang paling umum digunakan untuk sintesis oligonukleotida.

Hasil *Post destruksi* dengan 6 sampel diduga covid yang dimasukkan dalam plastik *polypropilen* kemudian *didestruksi* menggunakan *autoclaf* dengan suhu 121°C dengan tekanan 1,5 atm selama 15 menit, setelah proses ekstraksi RNA dan *Quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain reaction* (RT-qPCR) tidak ditemukan adanya *gen target* (Gen ORF1ab/ Gen E) yang dibandingkan dengan nilai pada kontrol positif (Tabel 2). Enam sampel dengan

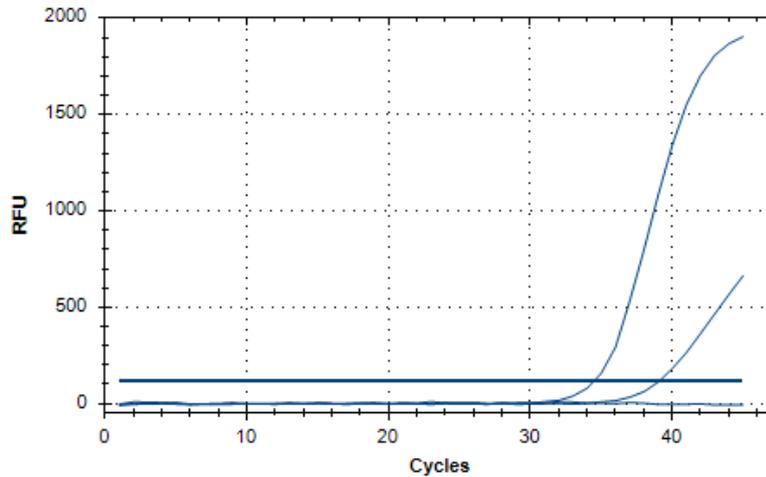
hasil negatif pada kode ulangan 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 rerata nilai ambang siklus atau nilai Ct pada gen ORF1ab bervariasi mulai dari siklus ke 4,8 - 5,59 (Gambar 4). Sedangkan grafik gen E tidak dapat mencapai garis *trace hold* sehingga dinyatakan sampel negatif jika dibandingkan dengan kontrol positif, grafik dapat melewati garis *trace hold* dan mencapai ambang nilai dengan siklus 24,67 - 24,83.



Gambar 1. Hasil analisis sebelum sterilisasi sampel covid menggunakan *Bio-Rad CFX*



Gambar 2. Hasil analisis sebelum sterilisasi sampel covid menggunakan *Bio-Rad CFX*



Gambar 3. Hasil analisis setelah sterilisasi sampel covid menggunakan *Bio-Rad CFX*

Tabel 2. Hasil sampel covid *post destruksi*

No	Kode Ulang Nomer Sampel	Cy5 IC	Nilai Cq		Hasil
			FAM ORF1ab gen	HEX E gen	
1	Negatif Kontrol	21,15	N/A	N/A	
2	Positif Kontrol	24,33	24,83	24,67	
3	1	25,92	N/A	N/A	Negatif
4	2	25,82	4,81	N/A	Negatif
5	3	25,94	5,71	N/A	Negatif
6	4	25,86	N/A	N/A	Negatif
7	5	25,50	5,59	N/A	Negatif
8	6	25,72	5,44	N/A	Negatif

Keterangan:

FAM kepanjangan dari *fluorescein midites* adalah pelengkap pewarna fluoresen yang paling umum digunakan untuk sintesis oligonukleotida.

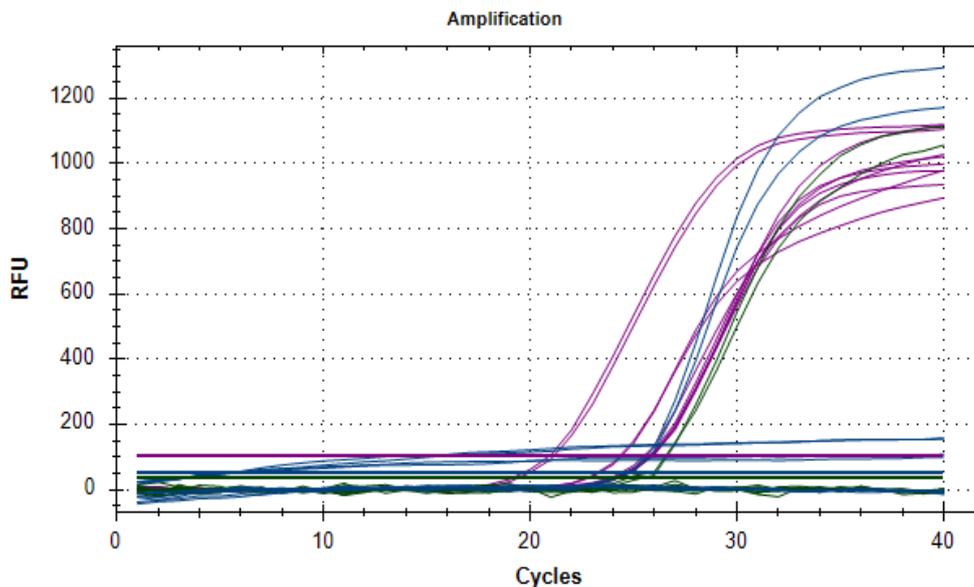
Cy5 dalam pemeriksaan PCR sebagai gen Kontrol positif eksogen ataupun endogen pada virus SARS CoV-2. Pada saat pemeriksaan PCR, pengujian dilakukan dengan menambahkan kontrol internal (Internal Control/IC) yang digunakan untuk memantau seluruh proses PCR.

HEX kepanjangan dari *Hexachloro-fluorescein*, merupakan pewarna fluorescein yang digunakan untuk memberi label oligonukleotida.

Analisis Data

Gambar 1. Dengan menggunakan *Master mix Bio Farma*, bahwa sampel *pre destruksi* dengan kode ulang nomer sampel 1, 2, 3 dan 5 didapatkan target gen positif dengan ditandai keluarnya gen N2 dan gen RdRP sesuai dengan gen pada Kontrol Positif. Pada Gambar 2. sampel *pre destruksi* dengan kode ulang nomer sampel 4 adalah negatif karena tidak didapatkan gen N2 dan gen RdRP. Sampel *pre destruksi* dengan kode ulang nomer sampel 6 dinyatakan diduga positif atau *inconclusive* karena hanya ditemukan satu gen saja yaitu gen N2. Sedangkan Gambar 4. dengan

menggunakan *Master Mix* yang berbeda yaitu *Bio Sensor* menunjukkan bahwa pada sampel *post destruksi* dengan kode ulang sampel nomer 1, 2, 3, 5, dan 6 ditemukan satu *gen* namun dengan nilai ambang siklus atau *Cycle Treshold Value* (CT value) yang rendah sehingga ke lima sampel tersebut dinyatakan negatif. Untuk sampel dengan kode ulang nomer sampel 4 tidak ditemukan adanya target gen yaitu gen ORF1ab dan gen E. Variabilitas nilai ambang batas mempunyai nilai 24 sampai 34 atau nilai Ct bervariasi tergantung protokol kit RNA yang digunakan (Buctha *et all.*, 2000, Bustin, 2020, Winaris *et all.*, 2022).



Gambar 4. Hasil analisis sesudah sterilisasi dengan pemakaian plastik polypropilen menggunakan *Bio-Rad CFX*

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian ditemukan adanya *gen* target pada sampel yang belum di *destruksi* (*pre destruksi*), sedangkan pada sampel *post destruksi* tidak ditemukan *gen* target dengan proses *destruksi* menggunakan plastik *polypropilen* dimana plastik sebagai wadah sementara penampungan limbah covid. Plastik *polypropilen* selama *destruksi* tidak ditemukan adanya kebocoran dan kerusakan sehingga dapat disimpulkan bahwa plastik *polypropilen* dapat digunakan sebagai pengganti *safety box* selama bekerja di BSL II. Saran, apabila plastik *polypropilen* dapat digunakan sebagai wadah yang berhubungan dengan sterilisasi, maka sebaiknya dengan penggunaan plastik *polypropilen* setelah proses *destruksi* dilakukan pembakaran pada *insinerator* agar tidak terjadi penumpukan limbah di sekeliling kita khususnya dan alam pada umumnya.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih yang tidak terhingga kami sampaikan kepada panitia Seminar Nasional VI Perhimpunan Pengelola Laboratorium Pendidikan Indonesia Universitas Gajah Mada yang telah menyelenggarakan Seminar dan Workshop, sehingga memberikan kesempatan waktu dan ruang bagi para Pengelola Laboratorium Pendidikan Indonesia pada umumnya dan saya pada khususnya untuk menjadi pemakalah pada seminar ini. Tidak lupa kami sampaikan terimakasih kepada Kepala Laboratorium Klinik Mikrobiologi FKUB alm. Dr.dr. Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes., SpMK yang sudah memberi kesempatan pada penulis dalam melaksanakan penelitian selama ditugaskan di BSL II RS Akademik Universitas Brawijaya dan Plt. Laboratorium Mikrobiologi Klinik Fakultas Kedokteran yang telah memberi dukungan materil dan non materil.

DAFTAR PUSTAKA

Archives of Biomedical Research
(InABR) Vol 2(1): 2022

- Buchta, C., Gorzer, I., Chiba, P., Camp, J, V., Holzmann, H., Stockl, E, P., Mayerhofer, M., Muller, M., M., Aberle, S, W. 2021. Variability of cycle threshold values in an external quality assessment scheme for detection of the SARS-CoV-2 virus genome by RT-PCR. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*
- Bustin SA . 2020 . Absolute Quantification of mRNA Using Real-Time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction Assays . *J Mol Endocrinol*.
- Istini. 2020. *Pemanfaatan Plastik Polipropilen Standing Pouch Sebagai Salah Satu Kemasan Sterilisasi Peralatan Laboratorium*. *Indonesian Journal Of Laboratory* Vol 2 (3), 41-46.
- Latief, 2000. *Teknologi Kemasan Plastik Biodegradeble*. Hayati-IPB
- Nurminah, M. 2002. *Penelitian Sifat Berbagai Bahan Kemasan Plastik dan Kertas serta Pengaruhnya terhadap Bahan yang Dikemas*. Fakultas Pertanian, Jurusan Teknologi Pangan, Universitas Sumatera Utara.
- Sahwan, F.L., Djoko, H.M., Sri, W., Lies, A. W., 2005. *Sistem Pengelolaan Limbah Plastik di Indonesia*. *Jurnal Teknologi Lingkungan* P3TL-BPPT Vol 6 NO 1 : 311-318.
- Sulchan, Muhammad; Endang Nur W. Keamanan Pangan Kemasan Plastik dan Styrofoam. *Maj Kedokt Indon*, Volum: 57, Nomor: 2, Pebruari 2007
- WHO. *Health-care waste. Keyfact Health Care Waste*, <http://www.who.int/newsroom/fact-sheets/detail/health-care-waste> (2018, accessed 2 April 2020).
- Winaris, N., Tulle, A, W., Poejiani, S., Andarini, S., Prastowo, W., Endharti, A, T., Hidayati, D, Y, N. 2021. Detection of Covid-19 Cases in the Hospital of Universitas Brawijaya Malang. *Indonesian*