
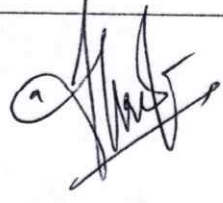

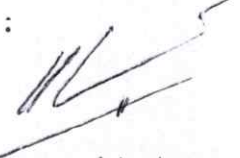


# INSTRUKSI KERJA


## PRODUKSI REAGENSIA ANTI HUMAN GLOBULIN (AHG) POLYSPESIFIK

NO DOKUMEN	:	UDDP-PRD-L3-004
VERSI	:	001
TANGGAL BERLAKU	:	15 OKTOBER 2021
TANGGAL REVIEW	:	15 OKTOBER 2023
STATUS DOKUMEN	:	MASTER : <input type="checkbox"/> COPY NO : <input type="checkbox"/>

<p>Disusun oleh:</p> <p>Bima Tigana Komatashi, S.Si. Petugas Sub. Bidang Produksi UDD Pusat Palang Merah Indonesia</p>	<p>Tanda tangan : </p> <p>Tanggal : 12 Agustus 2021</p>
<p>Diperiksa oleh :</p> <p>Amri Nurman, A.Md.Kes. Kasie. Produksi UDD Pusat Palang Merah Indonesia</p>	<p>Tanda tangan : </p> <p>Tanggal : 6 September 2021</p>
<p>Disetujui oleh :</p> <p>dr. Srihartaty, M.Biomed. Kepala Bidang Litbang dan Produksi UDD Pusat Palang Merah Indonesia</p>	<p>Tanda tangan : </p> <p>Tanggal : 24 September 2021</p>
<p>Disahkan oleh:</p> <p>Dr. dr. Saptuti Chunaeni, M.Biomed. Manajer Kualitas UDD Pusat Palang Merah Indonesia</p>	<p>Tanda tangan : </p> <p>Tanggal : 11 Oktober 2021</p>

DOKUMEN TERKENDALI

Salinan No : MASTER

 <p>Palang Merah Indonesia</p> <p>Unit Donor Darah Pusat</p>	<p><b>Intruksi Kerja</b> <b>Produksi Reagensia Anti Human</b> <b>Globulin (AHG) Polyspesifik</b></p>		<p>Halaman 1 dari 6 Nomor : UDDP-PRD-L3-004 Versi : 001 Tgl. berlaku : 15 Okt 2021 Tgl. kaji ulang : 15 Okt 2023</p>
	<p>Bidang Litbang &amp; Produksi</p>	<p>Sub. Bidang Produksi</p>	

### 1. Tujuan

Instruksi Kerja (IK) ini sebagai petunjuk bagi petugas dalam memproduksi reagensia Anti Human Globulin (AHG) untuk keperluan pemeriksaan serologi golongan darah lanjutan yang berkualitas dan sesuai standar, guna mencukupi kebutuhan nasional.

### 2. Ruang Lingkup

Instruksi Kerja (IK) ini digunakan petugas teknis di lingkungan sub. bidang produksi dalam kegiatan produksi reagensia Anti Human Globulin (AHG) Polyspesifik, yang meliputi semua unsur produksi mulai dari persiapan peralatan produksi, persiapan bahan kimia dan bahan baku serum maupun konsentrat, pembuatan larutan pengencer, dan produksi reagensia.

### 3. Persyaratan Sistem Mutu

Seluruh proses produksi reagensia harus:

- 3.1 Dilakukan oleh petugas teknis yang kompeten yang ditunjuk PTTD, TPD, Farmasi, dan Analis yang berwenang
- 3.2 Dilakukan di dalam laboratorium yang memenuhi persyaratan CPOB
- 3.3 Menggunakan peralatan yang telah terqualifikasi dan tervalidasi
- 3.4 Menggunakan bahan habis pakai yang sesuai spesifikasi dan dari distributor yang disetujui
- 3.5 Seluruh proses kegiatan produksi reagensia harus dicatat dan didokumentasikan

### 4. Referensi

- 4.1 Peraturan Menteri Kesehatan (PMK) Republik Indonesia Nomor 91 Tahun 2015 tentang Standar Pelayanan Transfusi Darah
- 4.2 Standar Prosedur Operasional Produksi Reagensia Anti Human Globulin (Monospesifik dan Polyspesifik) No. UDDP-PRD-L2-004
- 4.3 *PL. Mollison, Human Blood Group*
- 4.4 *Marion Scott, IBGRL, Introduction of Monoclonal Antibodies*
- 4.5 *Marion Scott, IBGRL, Formulation, Standardisation, Quality Control and Storage of Monoclonal Antibodies*

### 5. Definisi dan Singkatan


- 5.1 AHG (Anti Human Globulin) merupakan suatu reagensia yang mengandung antibodi IgG dan komplemen C3 yang dibuat melalui penyuntikkan pada kelinci sehingga didapatkan antibodi IgG dan komplemen C3 yang digunakan untuk pemeriksaan *coombs test*
- 5.2 C3 (*Complement 3*) adalah suatu komplemen kelas 3 yang merupakan salah satu glikoprotein dengan panjang 1663 asam amino. C3 berperan di dalam sistem komplemen yang terekspresi pada kromosom 19 pada gen C3

DOKUMEN TERKENDALI

Salinan No :

12-05163



 <p>Palang Merah Indonesia</p> <p>Unit Donor Darah Pusat</p>	<p><b>Intruksi Kerja</b> <b>Produksi Reagensia Anti Human</b> <b>Globulin (AHG) Polyspesifik</b></p>		<p>Halaman 2 dari 6 Nomor : UDDP-PRD-L3-004 Versi : 001 Tgl. berlaku : 15 Okt 2021 Tgl. kaji ulang : 15 Okt 2023</p>
	<p>Bidang Litbang &amp; Produksi</p>	<p>Sub. Bidang Produksi</p>	

- 5.3 IgG adalah antibodi monomer yang terbentuk dari dua rantai berat dan rantai ringan  $\gamma$ , yang saling mengikat dengan ikatan disulfida, dan mempunyai dua fragmen antigen-*binding*. Antibodi IgG merupakan antibodi yang bereaksi pada suhu 37°C dan bersifat dimmer
- 5.4 Bahan baku serum merupakan hasil serum kelinci yang didapat setelah melalui proses injeksi menggunakan antibodi dan atau C3 yang memiliki antibodi spesifik dengan pemberian injeksi yang dilakukan
- 5.5 Larutan AHG adalah larutan standar gabungan dari larutan A dan B serta ditambahkan larutan bovine albumin 30% dan larutan gliserin 84%

## 6. Prosedur

### 6.1 Pemilihan Hewan

- 6.1.1 Gunakan APD (Alat Pelindung Diri)
- 6.1.2 Bersihkan meja kerja dan peralatan
- 6.1.3 Melakukan pemilihan hewan kelinci untuk imunisasi dengan persyaratan usia 3-12 bulan dengan berat minimal 3 kg


### 6.2 Persiapan Alat dan Bahan

- 6.2.1 Siapkan semua peralatan dan bahan yang dibutuhkan seperti *sput*, botol 50 mL, parafilm, alkohol 70%, kapas, dll.
- 6.2.2 Siapkan antigen untuk imunisasi kelinci, yang terdiri dari zymosan dan emulsi IgG

#### 6.2.2.1 Pembuatan Zymosan

- Timbang 1200 mg zymosan A, masukkan kedalam *beaker glass* steril ukuran 50 mL
- Tambahkan 40 mL *saline*, kocok kemudian panaskan dalam suhu 100°C selama 30 menit sambil sesekali dikocok lalu didinginkan
- Putar 2500 rpm selama 3-5 menit, buang supernatan
- Endapan sedimen dicuci 3x dengan *Barbitone Buffer Saline* (BBS) dalam suhu 4°C
- Suspensikan kembali dalam 40 mL BBS (**Campuran I**) ke dalam wadah yang lain, masukan 8 mL *pool* serum golongan darah O segar (darah beku) ke dalam 160 mL BBS (**Campuran II**)
- Tambahkan **Campuran I** dengan **Campuran II** tadi, kemudian dikocok (40 mL + 110 mL)
- Inkubasi 37°C selama 60 menit sambil sesekali dikocok
- Cuci dengan BBS 3x dalam suhu 4°C
- Endapan zymosan disuspensikan kembali ke dalam 12 mL *saline* steril

Salinan No :

 <p>Palang Merah Indonesia</p> <p>Unit Donor Darah Pusat</p>	<p><b>Intruksi Kerja</b>  <b>Produksi Reagensia Anti Human Globulin (AHG) Polyspesifik</b></p>		<p>Halaman 3 dari 6</p> <p>Nomor : UDDP-PRD-L3-004</p> <p>Versi : 001</p> <p>Tgl. berlaku : 15 Okt 2021</p> <p>Tgl. kaji ulang : 15 Okt 2023</p>
	<p>Bidang Litbang &amp; Produksi</p>	<p>Sub. Bidang Produksi</p>	

- Tambahkan 12 mL FCA (*Freund Complete Adjuvant*)
- Kocok-kocok hingga terbuat emulsi zymosan
- Reagensia siap dipakai

#### 6.2.2.2 Pembuatan Emulsi IgG

- 50 ul *Human IgG*
- 10 mL *Saline Steril*
- 10 mL *Freund Complete Adjuvant* (FCA)
- Masukkan semua bahan di atas ke dalam botol kaca berpenutup
- Kocok botol tersebut sampai terbentuk emulsi
- Emulsi IgG siap dipakai

### 6.3 Imunisasi

- 6.3.1 Lakukan imunisasi kelinci dengan 2 kelompok, kelompok pertama dengan zymosan dan kelompok kedua dengan emulsi IgG
- 6.3.2 Untuk emulsi IgG, suntikan 0,5 mL ke masing-masing paha kelinci sebelah kanan dan 0,5 mL ke paha kelinci sebelah kiri
- 6.3.3 Untuk zymosan, suntikan 0,3 mL ke salah satu paha kelinci, paha kiri atau paha kanan
- 6.3.4 Lakukan sebanyak 3 kali dengan interval 3 minggu setiap imunisasi
- 6.3.5 Ambil sampel untuk pemeriksaan titer sementara, 1 minggu setelah imunisasi yang ke-3
- 6.3.6 Buat sesuai persyaratan untuk pemeriksaan titer IgG dan C3 adalah 16.000
- 6.3.7 Jika hasil pemeriksaan titer IgG dan C3 di bawah persyaratan standar, lakukan imunisasi ulang sampai memenuhi syarat

### 6.4 Pemotongan Hewan dan Pemeriksaan Titer

- 6.4.1 Lakukan pemotongan terhadap kelinci yang telah diimunisasi apabila memenuhi syarat
- 6.4.2 Tampung sel darah kelinci pada wadah steril dan kering
- 6.4.3 Lakukan pemisahan antara sel dan serum kelinci
- 6.4.4 Panaskan serum kelinci pada suhu 56°C selama 30 menit
- 6.4.5 Hilangkan anti-spesies dengan proses absorpsi
- 6.4.6 Periksa titer IgG dan C3 pada serum kelinci yang telah di-absorb

### 6.5 Persiapan Lembar Kerja


- 6.5.1 Siapkan lembar kerja pembuatan larutan A dan B
- 6.5.2 Siapkan lembar kerja pengolahan larutan AHG
- 6.5.3 Siapkan lembar kerja pemeriksaan uji mutu yang meliputi pemeriksaan potensi dan spesifikasi
- 6.5.4 Siapkan pencatatan meliputi: hasil titer antibodi (potensi *test*) dan spesifikasi *test*, tanggal pemeriksaan, dan nama petugas pemeriksa.

DOKUMEN TERKENDALI

Salinan No :

11/05/2023



 <b>Palang Merah Indonesia</b>  <b>Unit Donor Darah Pusat</b>	<b>Intruksi Kerja</b> <b>Produksi Reagensia Anti Human Globulin (AHG) Polyspesifik</b>		Halaman 4 dari 6 Nomor : UDDP-PRD-L3-004 Versi : 001 Tgl. berlaku : 15 Okt 2021 Tgl. kaji ulang : 15 Okt 2023
	<b>Bidang Litbang &amp; Produksi</b>	<b>Sub. Bidang Produksi</b>	

Penempelan stiker dalam lembar kerja uji mutu yang sudah diberi nomor identitas dan tanggal kedaluwarsa reagensia

6.5.5 Semua hasil pemeriksaan harus diperiksa oleh orang kedua (*second personal check*)

#### 6.6 Pembuatan Larutan AHG

6.6.1 Persiapan peralatan

- 6.6.1.1 *Beaker glass* 3000 mL
- 6.6.1.2 Gelas ukur 1000 mL
- 6.6.1.3 Timbangan elektrik
- 6.6.1.4 *Magnetic stirrer*
- 6.6.1.5 Galon plastik 10-20 liter
- 6.6.1.6 *Filter set*

6.6.2 Persiapan bahan kimia dengan jumlah volume sesuai standar

Bahan Kimia	Jumlah
NaCL	11 Gram
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2,81 Gram
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	9 Gram
Na <sub>4</sub> EDTA	0,95 Gram
NaN <sub>3</sub>	3,8 Gram
Bovine Albumin 30%	2 Gram
Gliserin 85 %	27 Gram
Aquadest	1000 mL

#### 6.7 Pengenceran Konsentrat AHG dan Penetapan Nilai Standar Pengenceran

6.7.1 Menentukan nilai pengenceran konsentrat dan pemeriksaan titer

6.7.2 Menetapkan nilai pengenceran konsentrat

6.7.2.1 Untuk *Anti Human Globulin* (AHG) Monospesifik IgG:  
 Dalam 1 liter larutan pengencer AHG ditambahkan 50 mL konsentrat Anti-C3


6.7.2.2 Untuk *Anti Human Globulin* (AHG) Monospesifik C3:  
 Dalam 1 liter larutan pengencer AHG ditambahkan 50 mL konsentrat Anti-C3

#### 6.8 Uji Kualitas AHG Polyspesifik

6.8.1 Tes Potensi

Adalah suatu pemeriksaan untuk mengetahui kualitas titer IgG dan C3 yang diproduksi. Metode yang digunakan adalah *tube test*. Nilai titer yang didapat harus memenuhi persyaratan sebagai berikut:

DOKUMEN TERKENDALI  
 Salinan No :

 <p>Palang Merah Indonesia</p> <p>Unit Donor Darah Pusat</p>	<p><b>Intruksi Kerja</b>  <b>Produksi Reagensia Anti Human Globulin (AHG) Polyspesifik</b></p>		<p>Halaman 5 dari 6          Nomor : UDDP-PRD-L3-004          Versi : 001          Tgl. berlaku : 15 Okt 2021          Tgl. kaji ulang : 15 Okt 2023</p>
	<p>Bidang Litbang &amp; Produksi</p>	<p>Sub. Bidang Produksi</p>	

- Persyaratan titer IgG produk UTDP adalah 128
- Persyaratan titer C3 produk UTDP adalah 16

#### 6.8.2 Tes Spesifikasi

Pemeriksaan harus menunjukkan hasil positif terhadap sel yang sudah *coated* oleh IgG dan C3. Metode yang digunakan adalah *tube test*.

### 6.9 Pengiriman Sampel ke Pengawasan Mutu

- 6.9.1 Pastikan hasil uji kualitas yang dilakukan di laboratorium bagian produksi sudah sesuai dengan standar yang ditentukan
- 6.9.2 Tempatkan reagensia *Anti Human Globulin (AHG)* ke dalam botol kemas antisera 10 mL yang berstiker, lengkap dengan nomor lot dan tanggal kedaluwarsanya
- 6.9.3 Masukkan botol reagensia *Anti Human Globulin (AHG) Polyspesifik* ke dalam *cool box* pengiriman sampel yang sebelumnya diberi *ice pack* untuk mempertahankan suhu dari reagensia tersebut
- 6.9.4 Siapkan buku pengantar pengiriman sampel ke petugas pengawasan mutu
- 6.9.5 Pastikan sampel diterima dan ditandatangani oleh petugas pengawasan mutu

### 6.10 Penerimaan Sertifikat Analisa

Setelah dilakukan pemeriksaan mutu dari sampel yang sudah dikirim ke bagian uji mutu pada sub. bidang pengawasan mutu, maka sub. bidang pengawasan mutu bagian uji mutu/*Quality Control (QC)* akan memberikan hasil pemeriksaan tersebut berupa sertifikat analisa sebagai bukti bahwa reagensia yang diperiksa telah dinyatakan **LULUS** uji mutu.

### 6.11 Pembotolan dan Pengemasan Reagensia

#### 6.11.1 Pelabelan

- 6.11.1.1 Siapkan masing-masing stiker yang sudah diberi nomor lot dan tanggal kedaluwarsa. Untuk reagensia AHG/Coombs Serum Polyspesifik diberi nomor pada stiker seperti berikut:

- **No. lot**


Terdiri dari 3 huruf identitas reagensia ('SGA' untuk Coombs Serum Polyspesifik), 2 digit nomor urut produksi, 2 digit bulan produksi, dan 2 digit tahun produksi.  
 Contoh: SGA.030818

- **Tanggal kedaluwarsa**

Terdiri dari nama bulan kedaluwarsa, yaitu terhitung 1 tahun dari bulan produksi reagensia dan 2 digit tahun kedaluwarsa yang diambil 1 tahun dari tahun produksi reagensia. Contoh: Agustus'19

DOKUMEN TERKENDALI  
 Salinan No: 001/001



 <b>Palang Merah Indonesia</b>  <b>Unit Donor Darah Pusat</b>	<b>Intruksi Kerja</b> <b>Produksi Reagensia Anti Human</b> <b>Globulin (AHG) Polyspesifik</b>		Halaman 6 dari 6 Nomor : UDDP-PRD-L3-004 Versi : 001 Tgl. berlaku : 15 Okt 2021 Tgl. kaji ulang : 15 Okt 2023
	Bidang Litbang & Produksi	Sub. Bidang Produksi	

6.11.1.2 Tempelkan/pasang stiker pada botol kemas secara manual per botol (tidak miring dan tidak terbalik)

6.11.1.3 Lakukan sterilisasi botol yang sudah diberi stiker di dalam *laminary air flow* dengan sinar ultra violet selama 15-30 menit

#### 6.11.2 Pengisian

6.11.2.1 Siapkan botol yang akan diisi reagensia ukuran 1 liter

6.11.2.2 Tutup botol dengan *dispensette* 10 mL dengan rapat

6.11.2.3 Tempatkan di dalam *laminary air flow* dengan sinar ultra violet selama 15-30 menit

6.11.2.4 Lakukan pengisian reagensia masing-masing 10 mL ke dalam botol kemas 10 mL

#### 6.12 Pengemasan dan Pengiriman

6.12.1 Masukkan reagensia ke dalam dus yang sudah disiapkan

6.12.2 Lakukan pengepakan ke dalam kantong plastik, beserta leaflet cara pemakaian

6.12.3 Tempelkan stiker *Realese* pada reagensia yang sudah dikemas

6.12.4 Kirim reagensia ke bagian gudang logistik dengan disertai formulir pengiriman produk reagensia ke logistik

### 7. Riwayat Perubahan

Nomor Versi	Tanggal Efektif	Referensi	Ringkasan Perubahan
001	15 Oktober 2021	Peraturan Menteri Kesehatan (PMK) Republik Indonesia Nomor 91 Tahun 2015 tentang Standar Pelayanan Transfusi Darah;  Standar Prosedur Operasional Produksi Reagensia Anti Human Globulin (Monospesifik dan Polyspesifik) No. UDDP-PRD-L2-004; <i>PL. Mollison, Human Blood Group;</i> <i>Marion Scott, IBGRL, Introduction of Monoclonal Antibodies;</i> <i>Marion Scott, IBGRL, Formulation, Standardisation, Quality Control and Storage of Monoclonal Antibodies</i>	Dokumen Baru

DOKUMEN TERKENDALI  
Salinan No :