

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hepatitis

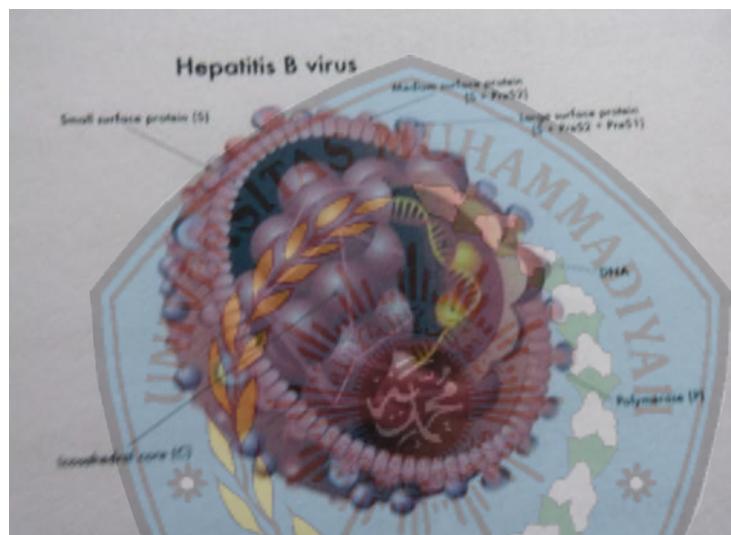
Hepar merupakan organ tubuh berbentuk biji dengan berat 1,5 kg pada orang dewasa. Sel hepar terlibat dalam fungsi metabolisme yang luas dan mengeluarkan sisa buangan produk tubuh serta bahan yang bersifat toksik, maka penyakit hepar akan mempengaruhi berbagai fungsi vital pada tubuh (J.C.E. Underwood, 2000). Hepatitis adalah suatu keadaan peradangan jaringan hati yang disebabkan oleh infeksi atau non infeksi. Gejala yang terlihat secara fisik adalah kulit dan sklera mata menjadi kuning (ikterus). Ikterus adalah suatu keadaan kulit, selaput lendir dan plasma menjadi kuning karena penimbunan pigmen empedu dalam tubuh (Lindseth, Glenda N., 2006)

Hepatitis timbul oleh infeksi virus hepatitis A,B,C,D dan E. Virus tersebut dapat menyebabkan keadaan hepatitis akut dengan manifestasi klinis yang bervariasi dari tanpa gejala sampai gejala yang paling berat hingga kematian. Hepatitis A dan E tidak menyebabkan penyakit kronis tetapi hepatitis B, C dan D menyebabkan infeksi yang menetap dan dapat menjadi hepatitis kronis, sirosis dan kanker hati (Noer, 2001)

2.1.1 Hepatitis B

Virus Hepatitis B ditemukan tahun 1965 dalam satu penelitian untuk mencari antibodi yang timbul terhadap suatu lipoprotein pada penderita haemophilia yang sering mendapatkan transfusi darah di Australia. Pada tahun

1970, Dane dkk melihat dalam mikroskop elektron partikel HBsAg dan partikel Virus Hepatitis B (VHB) yang hingga kini disebut partikel *Dane*. Virus Hepatitis B adalah virus DNA yang berlapis ganda (*double skelled*), dengan memiliki diameter 42 nm terdiri dari bagian luar adalah HBsAg dan bagian dalamnya Nukleokapsid yang didapati kode genetik VHB yang terdiri dari DNA ganda (*double stranded*) dengan panjang 3200 nukleotida (Soemoharjo, 2008).



Gambar 1. Struktur Virus Hepatitis B Australia (Noer, 2001)

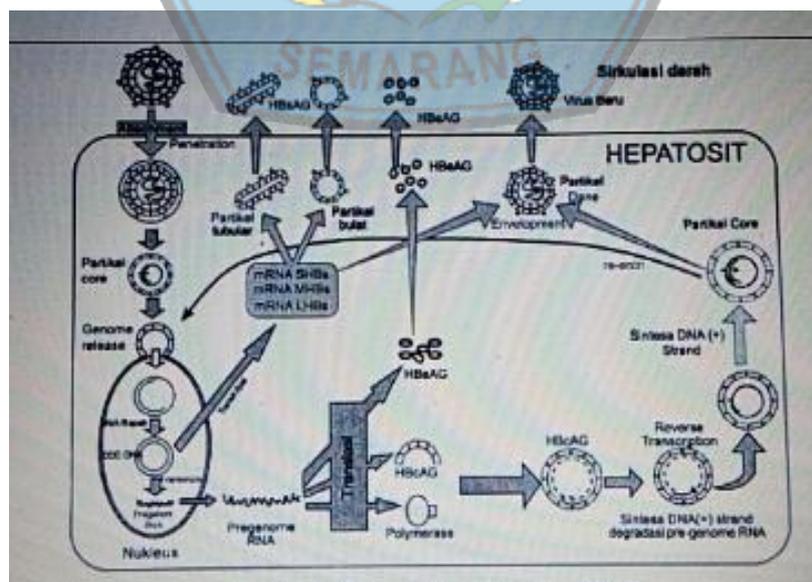
Hepatitis B merupakan penyakit inflamasi dan nekrosis dari sel-sel hepar yang disebabkan oleh virus hepatitis B. Virus ini merupakan kelas *hepadnavirus* yang berukuran 42 nm yang memiliki DNA dengan untai ganda. Masa inkubasi antara 30 – 180 hari, rata – rata 70 hari. Virus hepatitis B dapat tetap infeksiif ketika disimpan pada suhu 30 – 32⁰ C selama paling kurang 6 bulan dan ketika dibekukan pada suhu -15⁰ C bertahan hingga 15 tahun (WHO, 2002).

VHB dapat menyebabkan hepatitis akut dengan pemulihan dan hilangnya virus, menyebabkan penyakit kronis progresif dan non progresif yang berakhir dengan serosis atau kerusakan sel hati. VHB juga berperan penting dalam

terjadinya *karsinoma hepatoseluler*. VHB juga merupakan virus yang tahan pada suhu dan kelembaban yang ekstrem, maka darah dan cairan tubuh merupakan kendaraan utama untuk penularan. (Rawford, 2007).

2.1.2 Infeksi Virus Hepatitis B dan Protein Antigen

Infeksi dimulai setelah virus melewati sistem imun dan menuju ke sel hati, VHB akan menempel pada permukaan membran sel hati kemudian bermigrasi ke dalam sitoplasma. Pada sitoplasma sel hati VHB akan melepaskan DNA viral untuk membentuk protein-protein komponen VHB. Setelah berada pada nukleus VHB memanfaatkan perangkat genetik hospes, berinisiasi kemudian melakukan replikasi DNA virus. Proses transkripsi mRNA dan memproduksi protein viral yaitu protein HBs, protein HBe, dan enzim lainnya, setelah itu proses morfogenesis dan pembentukan virion VHB baru yang infeksiif dapat menyebar dan menginfeksi sel hati (Soemoharjo,2008).



Gambar 2. Siklus Replikasi Virus Hepatitis B (Soemoharjo,2008).

Proses infeksi Virus Hepatitis B (VHB) terjadi pada saat partikel utuh VHB berhasil masuk kedalam hepatosit kemudian kode genetik VHB masuk kedalam inti sel hati kemudian memerintah sel tersebut membentuk protein-protein yang merupakan komponen VHB. Fase awal terjadi penempelan virus dengan perantaraan protein *pre-s1*, protein *pre-s2* dan poly HSA (*Polymerized Human Serum Albumin*), serta perantaraan SHBs. Setelah melakukan penetrasi VHB kedalam hepatosit dengan mekanisme endositosis, maka terjadi pelepasan partikel core yang terdiri dari HBcAg, enzim polimerase dan DNA VHB ke dalam sitoplasma. Partikel core tersebut selanjutnya ditransportasikan menuju nukleus hepatosit. Pada proses ini terjadi *genom uncoating* (lepasnya HBcAg) karena kecilnya lubang nukleus dan berubah menjadi *partially double stranded* yang kemudian mengalami DNA repair menjadi *double stranded covalently* DNA (ccc DNA). Transkripsi cccDNA menjadi pregenom RNA dan beberapa messenger RNA (mRNA LHBs, mRNA MHBs dan mRNA SHBs). Translasi pregenom RNA dan messenger RNA akan menghasilkan protein core (HbcAg), HbeAg dan enzim polimerase, sedangkan translasi mRNA LHBs, mRNA MHBs dan mRNA SHBs menghasilkan komponen protein HbsAg, yaitu *large protein* (LHBs), *midle protein* (MHBs) dan *small protein* (SHBs). Pada fase ini terjadi pada infeksi hepatitis kronik. (Soemoharjo,2008).

Protein antigen yang berperan pada infeksi VHB adalah HBsAg, HBcAg dan HBeAg. HBsAg ada dalam 3 jenis protein, yakni *mayor protein/small protein*, *middle protein* dan *large protein*. *Mayor protein* dikode oleh *gen S*, *middle protein* dikode oleh *gen S* dan *pre-S2*, sedangkan *large protein* dikode oleh *gen S*,

gen pre-S2 dan *gen pre-S1*. HBeAg adalah suatu protein nonstruktural dan VHB yang disekresikan kedalam darah dan merupakan produk gen precore dan gen core didapatkan pada fase awal hepatitis akut atau kronis. Positifnya HBeAg menunjukkan aktivitas replikasi VHB yang tinggi pada individu HBsAg positif. HBcAg adalah hasil translasi pregenom RNA dan *messenger* RNA yang merupakan protein core, proses maturasi genom dalam partikel core dilanjutkan dengan coating partikel core oleh protein HBsAg. Proses berlangsung dalam retikulum endoplasmik, selanjutnya melalui aparatus golgi disekresi partikel-partikel VHB, yaitu partikel Dane, partikel tubuler dan partikel sferik. Selanjutnya hepatosit juga akan menyekresikan HBcAg kedalam sirkulasi darah (Soemoharjo,2008).

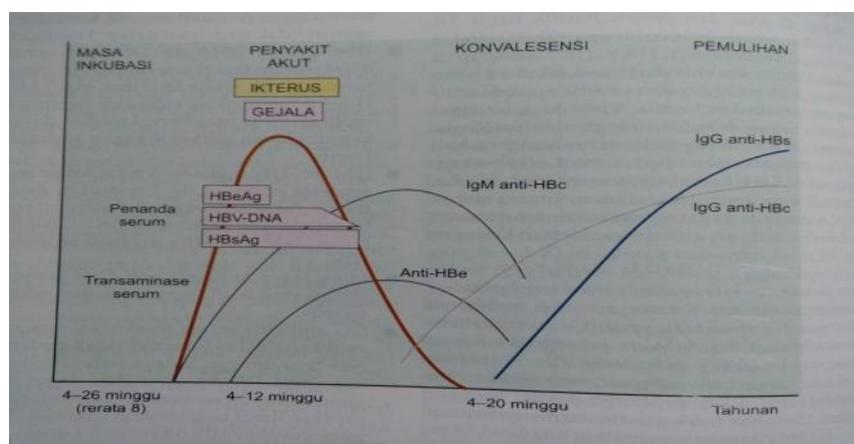
2.1.3 Patogenesis dan Mekanisme Respon Imun Tubuh

Infeksi virus berbeda dengan infeksi organisme lain karena ukuran jauh lebih kecil dan tidak memiliki dinding sel serta aktivitas metabolisme independen jadi virus tidak dapat berreplikasi diluar penjamu. Dalam proses masuknya virus kedalam tubuh interferon berperan sebagai antibiotik alami yang sama fungsinya seperti lysozim pada infeksi bakteri. Beban imunitas terletak pada sistem sel T sitotoksik yang khusus mengenali antigen MHC kelas I pembawa peptida virus. Kemudian sel NK akan lebih berperan dalam mengeliminasi virus(Playfair & Chain;2012).

Respon imun terhadap VHB menyebabkan kelainan terhadap hepatosit dengan tujuan untuk mengeleminasi VHB, dan terjadi nekrosis sel-sel yang

mengandung VHB. Jika respon imun tidak terjadi maka infeksi akan menjalar ke sel lainnya. Pada penderita asimtomatik respon imun tidak efektif sehingga nekrosis sel hati tidak terjadi dan virus tetap mengadakan replikasi tanpa gejala klinis. Pada infeksi VHB akut, setelah VHB masuk ke sel hati akan mengalami replikasi. Pertama akan berhubungan dengan respon imun nonspesifik kemudian terjadi kenaikan kadar IFN, yang melibatkan sel NK dan LKT yang dirangsang oleh IFN. Selanjutnya akan terjadi respon imun spesifik baik yang bersifat seluler maupun humoral. Respon imun seluler terjadi proses sitolitik yang berakibat pecahnya sel hati yang terinfeksi, dan respon imun humoral terjadi proses terbentuknya anti-HBs yang mengeleminasi VHB (Soemoharjo, 2008).

Hepatosit (sel hati) yang terinfeksi dapat menyintesis dan menyekresikan protein permukaan noninfeksi (HBsAg) dalam jumlah besar, yang muncul dalam sel dan serum sebagai struktur bulat dan tubular bergaris tengah 22 nm. Masa inkubasi terjadi asimtomatik yang lama (4 hingga 26 minggu, rata – rata 6 sampai 8 minggu) diikuti penyakit akut yang berlangsung berminggu – minggu atau berbulan – bulan (Kumar, Cotran, Robbin,2007).



Gambar 3. Respon Imun tubuh pada infeksi Hepatitis B(Kumar, Cotran, Robbin,2007).

Pada gambar terlihat bahwa, HBsAg muncul sebelum onset gejala lalu memuncak selama gejala penyakit muncul kemudian menurun sampai tidak terdeteksi dalam 3 hingga 6 minggu. HBeAg, HBV-DNA, dan DNA polimerase muncul dalam serum segera setelah HBsAg dan semuanya menandakan replikasi virus aktif. IgM anti HBc mulai terdeteksi dalam serum segera setelah muncul gejala, bersamaan dengan meningkatnya kadar *aminotransferase* serum. Pada minggu keempat muncul anti HBe mengisyaratkan infeksi akut memuncak dan mulai mereda. IgG dan anti HBs belum meningkat sampai penyakit akut berlalu dan tidak terdeteksi selama beberapa minggu hingga beberapa bulan setelah hilangnya HBsAg. Anti HBs dapat menetap seumur hidup (Kumar, Cotran, Robbin, 2007).

VHB merangsang respon imun non spesifik (*innate immune response*) dalam jangka waktu pendek, dalam beberapa menit sampai beberapa jam. Proses eliminasi nonspesifik ini terjadi tanpa restriksi *Human Leukocyte Antigen* (HLA) dengan memanfaatkan sel *natural killer* (NK) dan *natural killer-T* (NK-T). Proses berlanjut pada respon imun spesifik yaitu dengan aktivasi limfosit T dan limfosit B. Aktivasi sel TCD8⁺ terjadi setelah kontak reseptor T tersebut dengan kompleks peptida HBV-MHC (*Major Histocompatibility Complex*) kelas I yang ada pada permukaan dinding sel hati dan pada permukaan dinding APC (*Antigen Presenting Cell*) dan dibantu dengan rangsangan sel TCD4⁺ yang sebelumnya sudah mengalami kontak dengan kompleks peptida VHB-MHC kelas II pada dinding APC. Sel T CD8⁺ kemudian mengeliminasi virus yang ada di sel hati dan menimbulkan *glutamic pyruvic transaminase* (GPT). Peptida HBV inilah yang

menjadi antigen sasaran respon imun yang disebut peptida kapsid, yaitu HBcAg atau HBeAg (Bertoletti dan Gehring,2013).

Produksi antibodi terjadi oleh aktivitas limfosit B dengan bantuan sel CD4⁺. Antibodi yang terbentuk yaitu anti-HBs, anti-HBc dan anti-HBe. Antibodi anti-HBs berfungsi menetralisasi partikel HBV yang bebas untuk mencegah masuknya virus ke dalam sel, dan mencegah penyebarannya dari sel satu ke sel yang lain. Proses eliminasi virus yang berlangsung efisien akan menghentikan infeksi virus, tetapi pada proses yang berlangsung kurang efisien maka infeksi tetap terjadi (Noer,2007).

2.1.4 Gejala Klinis Hepatitis B

HBV dengan masa tunas 4 hingga 6 bulan dengan gejala asimtomatis, pada stadium akut dari suatu infeksi aktif dapat berlangsung sampai 2 bulan dan hepatitis kronis akan mengalami peradangan hati selama 6 bulan. Hepatitis kronis dapat bersifat progresif lambat atau fulminan yang menyebabkan nekrosis hati, serosis, gagal hati dan kematian (Corwin,2009).

Perjalanan penyakit hepatitis B menyebabkan gangguan hepatosit yaitu peradangan sel – sel hati. Penyakit peradangan ini sering bersifat kronis, dan infeksi virus sistemik yang dapat mengenai hati antara lain, *mononukleosis infeksiosa* yang menyebabkan hepatitis ringan, infeksi *sitomegalovirus* dan demam kuning (Tierney,2002).

2.1.5 Penularan Virus Hepatitis B (VHB)

Virus Hepatitis B (HBV) dapat ditularkan melalui parenteral dan menembus membran mukosa, terutama melalui berhubungan seksual (Price & Lorraine,2013). Penanda HBs Ag telah diidentifikasi pada hampir setiap cairan tubuh dari orang yang terinfeksi yaitu saliva, airmata, cairan seminal, cairan cerebrospinal, asites dan air susu ibu. Cairan tubuh (terutama semen dan saliva) telah diketahui infeksius (Thedja,2011).

Potensi penularan Hepatitis B sangat tinggi di lingkungan kerja para petugas kesehatan (dokter, tim bedah, perawat, dan bidan), karena sering melakukan kontak langsung (Lina,et.al,2005). Penularan lain melalui transfusi darah, penggunaan alat suntik bersama pada pecandu narkoba, dan peralatan kedokteran, pisau cukur, sisir, selimut yang terkontaminasi VHB, juga dicurigai penularan melalui nyamuk atau serangga penghisap darah (Maksum,2015).

2.2 Metode pemeriksaan Hepatitis B

Pada penelitian ini ada dua metode yang akan dilakukan yaitu metode *ELISA*(Enzim Linked Imonnosorbent Assay) dan metode *ELFA* (Enzim Linked Imonnoflorescent Assay).

2.2.1. Metode ELISA(Enzim Linked Imonnosorbent Assay)

Metode *ELISA* adalah metode yang direkomendasikan oleh Kemenkes RI untuk pemeriksaan HbsAg. Prinsip dari pemeriksaan ini adalah penggabungan

antara sampel, Anti-HBs yang telah dilapiskan pada *microwell* dan Anti-HBs berlabel enzim(Kemenkes RI, 2012).

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) adalah teknik biokimia yang digunakan dalam bidang imunologi untuk mendeteksi kehadiran antibodi atau antigen dalam suatu sampel. Prinsipnya adalah sejumlah antigen yang tidak dikenal ditempelkan pada suatu permukaan, kemudian antibodi spesifik dicucikan pada permukaan tersebut. Maka terjadilah ikatan dengan antigennya, antibodi tersebut terikat dengan enzim ditambahkan substansi yang dapat diubah oleh enzim menjadi sinyal yang dapat dibaca. Sampel dengan jumlah antigen yang tidak diketahui dimobilisasai pada suatu permukaan solid baik spesifik(melalui penangkapan oleh antibodi lain yang spesifik untuk antigen yang sama disebut *sandwich ELISA*) maupun non-spesifik (melalui penyerapan pada permukaan). Setelah antigen dimobilisasi antibodi pendeteksi ditambahkan membentuk kompleks antigen-antibodi. Antibodi pendeteksi juga berikatan dengan enzim atau dideteksi oleh antibodi sekunder yang berikatan dengan enzim melalui biokonjugasi. Diantara tiap tahapan, *plate* harus dicuci dengan larutan deterjen lembut untuk membuang kelebihan protein atau antibodi yang tidak terikat. Setelah tahap pencucian terakhir dalam *plate* ditambahkan substrat enzimatik untuk memproduksi sinyal yang visibel yang menunjukkan kuantitas antigen dalam sampel(Kresna.,2001).

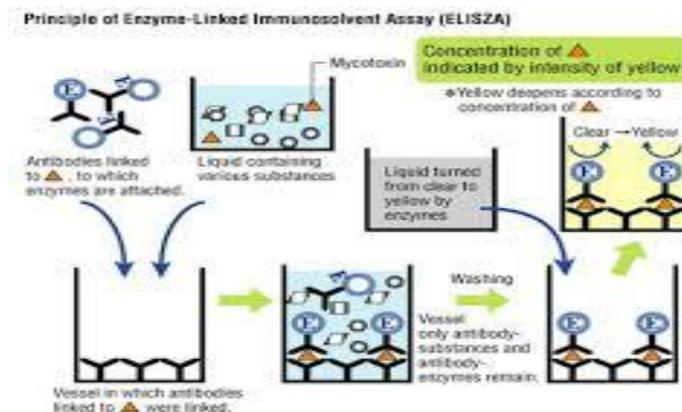
Prinsip teknik *ELISA* menggunakan indikator (label) enzim, dengan kelebihanannya yaitu cukup sensitif, reagen mempunyai jangka waktu kedaluwarsa yang cukup panjang serta pembacaan atau reader dapat menggunakan

spektrofotometer biasa dan mudah. Apabila antibody digunakan untuk melapisi partikel maka metode ini sering disebut capture, karena antigen dalam spesimen seolah-olah ditangkap oleh matriks yang dilapisi antibody. Pada theknik ini antibody atau antigenyang dikonjugasikan dengan enzim dan dan substrat yang sesuai (Kresna.,2001).

Teknik *ELISA* dibedakan menjadi dua jenis, yaitu teknik *ELISA* kompetitif yang menggunakan konjugat antigen-enzim atau konjugat antibodi-enzim, dan teknik *ELISA* nonkompetitif yang menggunakan dua antibodi (primer dan skunder). Pada teknik *ELISA* nonkompetitif, antibodi kedua (skunder) akan dikonjugasikan dengan enzim yang berfungsi sebagai sinyal. Teknik *ELISA* nonkompetitif inilah yang disebut teknik *ELISA sandwich* (Turgeon; 2014).

Ada tiga macam teknik *ELISA* yang sering digunakan antara lain : *ELISA Direct*, *ELISA Indirect* dan *ELISA Sandwich*.

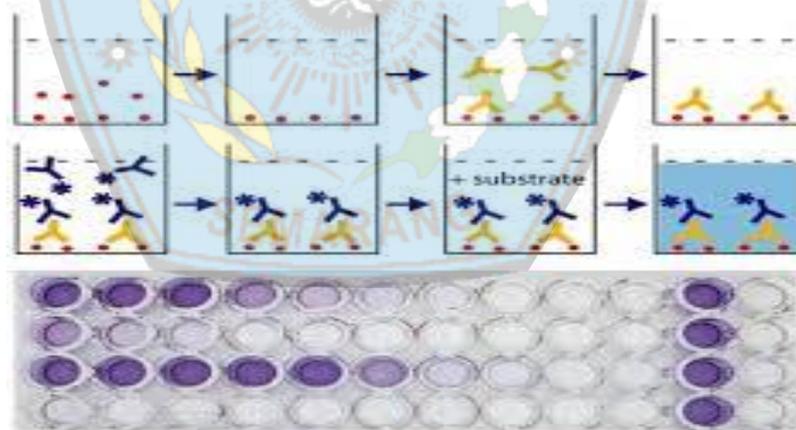
- a. *ELISA Direct*, merupakan teknik yang paling sederhana dan sering digunakan untuk mendeteksi dan mengukur konsentrasi antigen pada sampel dengan suatu antibody spesifik (monoklonal) untuk mendeteksi keberadaan antigen yang diinginkan. Teknik ini memiliki beberapa kelemahan, yakni immunoreaktifitas antibodi kemungkinan akan berkurang akibat bertaut dengan enzim, membutuhkan waktu lama dan mahal,tidak fleksibel dalam pemilihan enzim dari antibodi pada tes yang berbeda, amplifikasi sinyal sedikit. Tetapi memiliki kelebihan, yaitu menggunakan satu antibodi saja, kemungkinan gagal dapat diminimalisir.



Gambar 4. Prinsip reaksi pada metode *ELISA* (Turgeon; 2014).

- b. *ELISA* Indirect, adalah teknik yang sederhana tetapi dikhususkan untuk deteksi atau pengukuran konsentrasi antibodi. *ELISA* indirect menggunakan antigen spesifik (monoklonal) dan antibodi skunder spesifik bertaut enzim signal untuk mendeteksi keberadaan antibodi yang diinginkan pada sampel yang diuji. Beberapa kelemahan teknik ini adalah membutuhkan waktu relatif lama karena membutuhkan 2 kali waktu inkubasi. Kelebihan teknik ini antara lain; banyak variasi antibodi skunder yang tersedia di pasaran (mudah didapat), immunoreaktifitas antibodi yang diinginkan tidak terpengaruh oleh tautan enzim signal ke antibodi skunder karena penautan dilakukan pada wadah yang berbeda, tingkat sensitifitas meningkat (Turgeon; 2014).
- c. *ELISA* Sandwich, teknik ini menggunakan antibodi primer spesifik untuk menangkap antigen yang diinginkan dan antibodi skunder tertaut enzim signal untuk mendeteksi keberadaan antigen dalam sampel. Prinsipnya hampir sama dengan *ELISA* direct, tetapi larutan antigen yang diinginkan tidak dimurnikan. Antigen tersebut berinteraksi dengan antibodi primer spesifik dan antibodi skunder spesifik tertaut enzim signal. Teknik ini

cenderung dikhususkan pada antigen yang memiliki 2 sisi antigenic (sisi interaksi dengan antibodi) atau antigen yang bersifat multivalent seperti polisakarida atau protein. Antibodi primer sebagai antibodi penangkap sedangkan antibodi sekunder sebagai antibodi deteksi. Kelebihan dari teknik *ELISA* Sandwich adalah tingkat sensitifitasnya yang relatif lebih karena antigen yang didinginkan harus berinteraksi dengan dua jenis antibodi, yaitu antibodi penangkap dan antibodi detector, kemampuan menguji sampel yang tidak murni. Kelemahannya, hanya dapat diaplikasikan untuk mendeteksi antigen yang bersifat multivalent serta sulit mendapatkan dua jenis antibodi yang dapat berinteraksi dengan antigen yang sama pada sisi antigenic yang berbeda (epitopnya harus berbeda) (Turgeon; 2014).

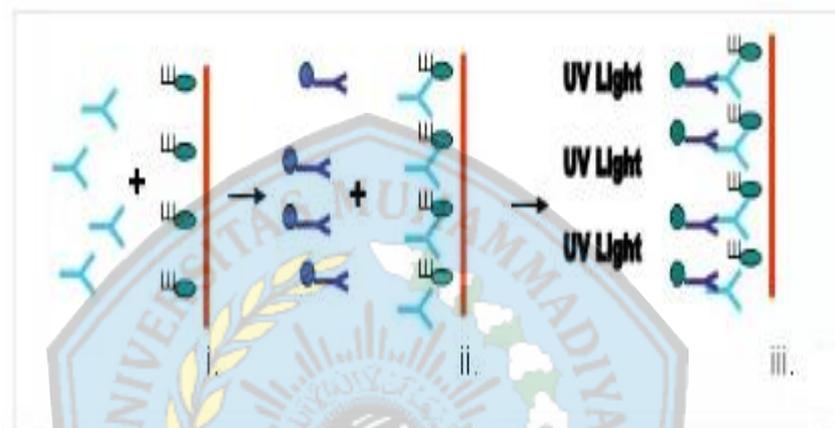


Gambar 5. Tes *ELISA* Sandwich (Turgeon; 2014).

2.2.2. Metode *ELFA* (*Enzim Linked Immunofluorescent Assay*).

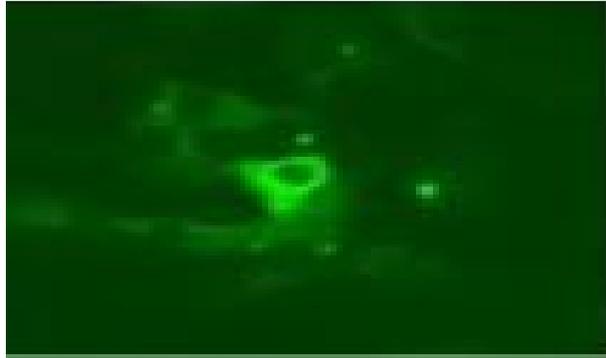
Metode *ELFA* (*Enzim Linked Immunofluorescent Assay*) metode pengembangan dari prinsip *ELISA* yang pembacaannya berdasarkan fluoresensi.

Tes ini menggunakan prinsip immobilising sel yang terinfeksi dengan virus atau takzoit parasit oleh fiksasi kimia. Sampel ditambahkan ke piring tes atau slide di beberapa pengenceran dan diinkubasi pada suhu inti tubuh, jika antibodi terhadap antigen yang hadir dalam sampel maka akan mengikat antigen selama masa inkubasi.



Gambar 6. Deteksi antibodi oleh *ELFA* (Turgeon, 2014).

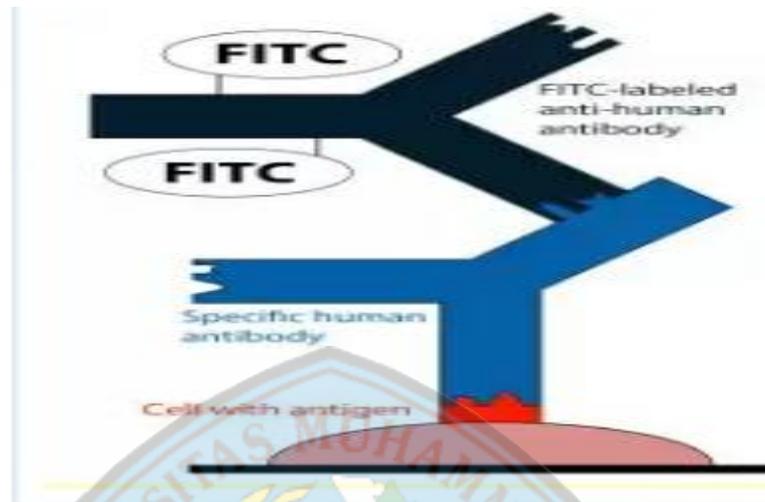
Tes dicuci untuk menghilangkan antibodi yang tidak terikat maka antibodi yang cocok di konjugasi dengan penanda fluorescent. Antibodi sekunder akan mengikat setiap antibodi yang ada pada sampel yang telah berikatan dengan antigen. Tes diinkubasi kemudian dicuci lagi kemudian dibaca dengan mikroskop menggunakan pencahayaan ultra violet. Penanda fluoresen bersinar dengan warna hijau apel terang (Turgeon, 2014)



Gambar 7. Warna ikatan antibodi dan antigen pada mikroskop fluorescent(Turgeon, 2014).

Teknik standar untuk penentuan antibodi pada infeksi agen pada metode *ELFA* adalah spesififikasi tinggi antara sampel negatif dan positif menghasilkan perbedaan kekuatan sinyal, setiap antibodi terikat menunjukkan pola floresensi yang khas tergantung pada lokasi antigen individu. Seluruh spektrum antigen dari substrat asli tersedia sehingga memungkinkan deteksi sejumlah besar antibodi dan mencapai tingkat deteksi lebih tinggi. Immunofluoresensi memungkinkan deteksi simultan antibodi terhadap beberapa antigen biokimia yang berbeda pada satu substrat biologis tunggal. Prinsip dari tes Immunofluoresen adalah untuk penentuan autoantibodi atau antibodi terhadap agen infeksi, bagian jaringan obat, atau zat biokimia ditandai digunakan sebagai substrat antigen. Jika sampel positif antibodi spesifik dalam sampel serum diencerkan melekat pada antigen digabungkan ke fase padat. Pada tahap kedua antibodi melekat yang diwarnai dengan antibodi anti-manusia fluorescein-label dan divisualisasikan dengan mikroskop flouresensi. Sampel positif dapat dititrasi, interval titrasi yang paling cocok disediakan adalah faktor pengenceran 3,162 (akar kuadrat dari 10). Dengan

cara ini setiap langkah kedua mewakili penyebutan kekuatan integral dari 10 (1:10; 1:32; 1:100 dst)(Stevens, 2010)

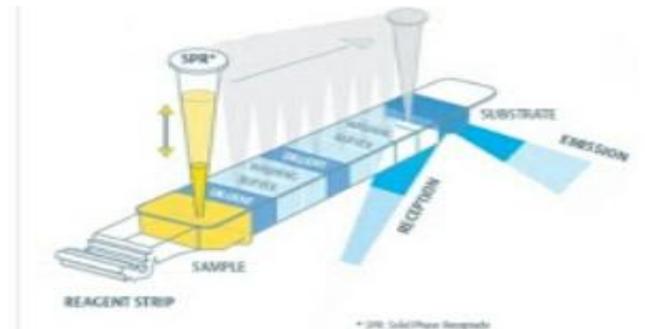


Gambar 8. Ikatan antibodi anti-manusia fluorescein-label (Stevens, 2010)

Peralatan yang digunakan pada metode *ELFA* adalah alat minividas yang merupakan alat yang dipergunakan untuk pemeriksaan imunologi. Prinsip *ELFA* yang pembacaannya berdasarkan fluoresensi. Adapun prinsip *ELFA* yaitu agar terjadi suatu reaksi warna pada *ELFA* maka dibutuhkan suatu antibodi yang dilabeli enzim, dan substrat diberi indikator warna yang dikenal dengan kromogen.

Validasi pada metode *ELFA* untuk pemeriksaan HBs Ag terhadap *ELISA* adalah sensitivitas 75,82% dan spesifisitas 100%. Pada penelitian tersebut tingkat akurasi 81,81% (Ali; Akhalidi, 2009).

Prosedur yang digunakan dalam mini vidas adalah sistem Vidas uji menggunakan sistem reagen strip. Strip berisi reagen yang diperlukan untuk reaksi, *SPR* sebagai pipetting dan perangkat reagen transfer pada setiap tahap reaksi, maka aspirasi reagen masuk dan keluar terjadi secara otomatis dan higienis, ini mencegah kontaminasi antar reagen atau antar sampel



Gambar 9. Strip sampel untuk uji Immunofluorescent(Stevens, 2010)

Hal yang perlu diperhatikan:

- a. Pemeriksaan dengan reagen baru terlebih dahulu MLE secara otomatis.
- b. SPR dan strip reagen yang digunakan harus sama.
- c. Setiap 1 SPR dan 1 strip reagen hanya satu test.
- d. Kalibrasi dan running control dilakukan setiap 2 minggu sekali.
- e. Setelah selesai digunakan mini vidas dapat langsung dimatikan tanpa harus melalui prosedur khusus.

2.3 Sensitivitas dan Spesifisitas

Dalam menggunakan data yang diperoleh melalui pengukuran laboratorium ada pembatasan dan pemakaian data yang berhubungan dengan ketepatan dan ketelitian. Ketepatan menunjukkan seberapa dekat suatu hasil pengukuran dengan hasil yang sebenarnya. Ketelitian menunjukkan seberapa dekat hasil yang didapat dari pengukuran yang berulang pada suatu zat yang sama. Metode A dapat dikatakan lebih teliti dari metode B karena nilai-nilai yang

tidak bervariasi, tetapi metode B memiliki ketepatan yang lebih baik daripada metode A karena nilai rata-rata yang lebih mendekati (Sacher & McPherson; 2004)

Sensitivitas adalah proporsi subyek berpenyakit bereaksi positif terhadap pengujian penyakit yang bersangkutan. Probabilitas kondisional tes positif bila subyek atau individu benar-benar sakit. Sensitivitas ditunjukkan oleh probabilitas hasil tes benar positif dibandingkan hasil positif menurut standar atau pembandingan. Tujuannya untuk menghitung banyaknya orang yang mengidap suatu penyakit dengan hasil tes positif (Lalkhen dan Mc Cluskey, 2008). Sensitivitas suatu tes menunjukkan kemampuannya untuk menghasilkan lebih banyak hasil positif-sejati dan sedikit hasil negatif-palsu secara matematis dirumuskan sebagai:

$$\frac{\text{Positif-sejati}}{\text{Positif-sejati} + \text{negatif-palsu}} = \text{Sensitivitas}$$

Adanya peningkatan hasil positif-palsu akan menurunkan sensitivitas (Sacher & McPerson; 2004)

Spesifisitas adalah kemampuan suatu tes untuk mengidentifikasi atau mendiagnosa subyek atau individu dengan tepat dengan hasil tes negatif dan benar tidak sakit. Spesifisitas ditunjukkan oleh probabilitas hasil tes benar negatif dibandingkan dengan hasil negatif menurut standar atau pembandingan. Tujuannya untuk menghitung banyaknya orang yang tidak mengidap suatu penyakit dengan hasil tes negatif (Akobeng, 2006). Spesifisitas suatu tes mencerminkan kemampuannya untuk mendeteksi negatif-sejati dengan sangat sedikit hasil positif palsu. Spesifisitas dapat dirumuskan sebagai berikut:

$$\frac{\text{negatif-sejati}}{\text{Negatif-sejati} + \text{positif-palsu}} = \text{Spesifisitas}$$

Hasil negatif dan positif ini mengacu pada nilai yang didapat pada individu-individu dengan penyakit tertentu yang diperiksa (Sacher & McPerson; 2004).

Sensitifitas dan spesifisitas dapat diperoleh melalui suatu uji diagnostik, yang merupakan suatu uji penelitian dengan tujuan untuk menegakkan diagnosis atau menyingkirkan penyakit, untuk tes skrining, pengobatan pasien dan untuk study epidemiologi. Uji metode diagnostik pada dasarnya merupakan penelitian observasional yang membandingkan hasil dugaan atau prediksi suatu pemeriksaan terhadap suatu nilai baku yang mendekati kebenaran (Sastroasmoro dan Ismail, 2011).

Gold standart atau baku emas adalah standar untuk pembuktian ada atau tidaknya penyakit pada pasien, dan merupakan sarana diagnostik terbaik yang ada. Uji diagnostik baru harus memberi manfaat yang lebih dibanding uji yang sudah ada, seperti nilai diagnostik tidak jauh berbeda dengan uji diagnostik standar, memberi rasa aman bagi pasien (tidak invasif), lebih mudah dan lebih murah serta dapat mendiagnosis pada fase lebih dini (Sastroasmoro dan Ismail, 2011)

Tabel 2. Uji Diagnostik

Penentuan Pemanding			
Hasil +	+	-	
	Positif Benar (a)	Positif Semu (b)	Nilai Ramal Positif

Uji -	Negatif Semu (c) Sensitivitas	Negatif Benar (d) Spesifisitas	Nilai Ramal Negatif
-------	----------------------------------	-----------------------------------	---------------------

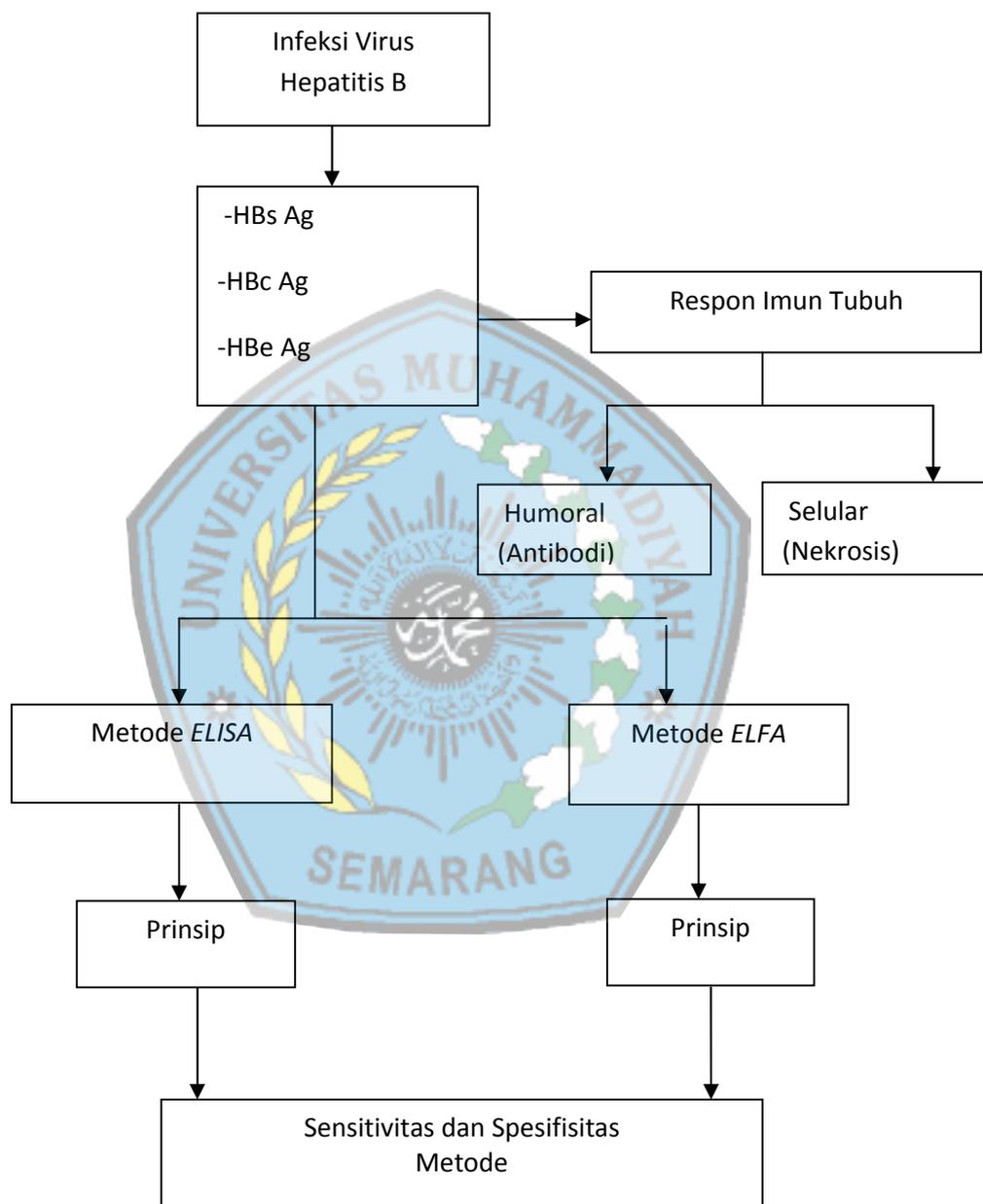
Hasil uji diagnostik disajikan dalam tabel 2 X 2. Hasil positif benar dimasukkan dalam sel a, hasil positif semu dalam sel b, hasil negatif semu dalam sel c, dan hasil negatif benar dalam sel d. Dari data hasil tersebut dihitung nilai sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif dan nilai ramal negatif dengan rumus sebagai berikut :

1. Sensitivitas = $a : (a+c)$
2. Spesifisitas = $d : (b+d)$
3. Nilai ramal positif = $a : (a+b)$
4. Nilai ramal nnegatif = $d : (c+d)$

Perhitungan sensitivitas dan spesifisitas dinyatakan dalam persen (Akobeng, 2006).

Faktor faktor yang mempengaruhi seperti kelembaban, kontak langsung dengan sinar matahari saat penyimpanan reagen, jenis antigen yang digunakan, pemakaian alat yang tidak sesuai prosedur baku merupakan faktor yang mempengaruhi keterbatasan sensitivitas dan spesifisitas metode (Fardhani, 2014).

2.4 Kerangka Teori



2.5 Kerangka Konsep

