

# UJI VALIDITAS FOKUS DIAGNOSTIC HBsAg STRIP UNTUK DETEKSI HBsAg DENGAN ELISA SEBAGAI STANDAR BAKU

Kalma \*)

\*) Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Makassar

## Abstrak

Hepatitis merupakan masalah kesehatan masyarakat yang serius baik di dunia maupun di Indonesia karena jumlah penderita yang semakin meningkat. Indonesia menempati urutan ketiga jumlah penderita hepatitis B terbanyak di Asia sesudah Cina dan India, khusus di kota Makassar termasuk daerah endemisitas yang tinggi. Permasalahan dalam penelitian ini adalah masih banyak laboratorium klinik yang belum memiliki fasilitas yang lengkap terutama dalam pemeriksaan HBsAg dengan menggunakan automatic metode ELISA, oleh karena itu metode imunokromatografi merupakan pilihan untuk melakukan pemeriksaan HBsAg, salah satunya adalah Fokus Diagnostic. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui validitas hasil pemeriksaan fokus diagnostic untuk deteksi HBsAg dengan ELISA sebagai standar baku. Penelitian uji diagnostik dengan rancangan potong silang dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar periode September – Desember 2013. Data dianalisis dengan melakukan uji Validitas untuk mengetahui sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif dan nilai ramal negatif. Hasil penelitian didapatkan sensitivitas 94,11%, spesifisitas 100%, nilai ramal positif 100%, dan nilai ramal negatif 92,85%. Simpulan metode imunokromatografi Fokus Diagnostic dapat digunakan untuk deteksi HBsAg dalam spesimen.

Kata kunci : ELISA, HBsAg, imunokromatografi, validitas

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Hepatitis merupakan masalah kesehatan masyarakat yang serius baik di dunia maupun di Indonesia karena jumlah penderita yang semakin meningkat. Sekitar 2 milyar orang pernah terkena penyakit ini dan diperkirakan 380 juta penduduk dunia yang mengidap hepatitis, di Indonesia jumlah penderita hepatitis B diperkirakan mencapai 15 juta orang, sekitar 50 % dari jumlah tersebut berpotensi menjadi hepatitis kronis (Dalimartha S, 2004).

Saat ini Indonesia menempati urutan ketiga, jumlah penderita hepatitis B terbanyak di Asia sesudah Cina dan India, namun kepedulian terhadap penyakit ini masih rendah, khusus di kota Makassar termasuk daerah dengan endemisitas yang tinggi. Penelitian di Makassar pada 2011-2012 ditemukan 8,4 % atau 84.000 penduduk adalah penderita hepatitis B kronis (Luthfi Parewangi, 2013).

Penderita hepatitis tidak tau bagaimana dan kapan mereka terinfeksi virus ini, gejala muncul beberapa minggu atau bulan setelah virus masuk

kedalam tubuh. Pada hepatitis akut gejalanya jelas, tetapi pada hepatitis kronis gejalanya tidak nampak dan baru muncul setelah organ hati dalam keadaan yang sangat parah. Penularan virus hepatitis B sulit dielakkan, oleh karena itu pemeriksaan laboratorium sangat penting dilakukan untuk mengetahui keberadaan infeksi hepatitis B (Hardjoeno, 2007).

Pemeriksaan imunoserologi untuk HBsAg umumnya dilakukan dengan metode ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*), dan imunokromatografi. Metode ELISA merupakan pemeriksaan HBsAg yang dijadikan Standar baku namun masih jarang dilakukan di laboratorium sederhana, hal ini disebabkan karena metode tersebut biayanya relatif mahal, memerlukan peralatan khusus, rumit dan agak lama dibanding dengan metode imunokromatografi.

Metode imunokromatografi yang sering disebut *rapid test* biayanya relatif murah, tidak memerlukan peralatan khusus, praktis dan cepat, hasil dapat dibaca dalam 15 menit sehingga banyak

rumah sakit yang menggunakan metode tersebut (Handojo I, 2003).

Salah satu imunokromatografi yang biasa digunakan adalah fokus diagnostic HBsAg strip. Untuk kepentingan diagnosis metode pemeriksaan laboratorium yang digunakan sebaiknya mempunyai nilai sensitifitas dan spesifisitas yang tinggi untuk menghindari salah diagnosis. Untuk itu peneliti ingin mengetahui nilai sensitifitas dan spesifitas fokus diagnostic HBsAg strip untuk deteksi HBsAg dengan metode ELISA sebagai standar baku atau *gold Standar*.

Berdasarkan uraian tersebut, maka dapat dirumuskan masalah pada penelitian ini sebagai berikut : Berapa nilai sensitifitas, spesifisitas, nilai ramal positif dan nilai ramal negative fokus diagnostic HbsAg strip.

#### **B. Rumusan Masalah**

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana perbandingan Tuberkulosis metode Imunokromatografi *ABON* Rapid Card anti-TB dan mikroskopik Basil Tahan Asam (BTA) di Balai Besar Kesehatan Paru Makassar ?

#### **C. Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan nilai sensitifitas, nilai spesifisitas, nilai ramal positif dan nilai ramal negative fokus diagnostic HbsAg strip

#### **D. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan bermanfaat sebagai bahan informasi atau masukan bagi Analis Kesehatan dan atau tenaga laboratorium kesehatan tentang validitas perangkat diagnostik fokus diagnostic HBsAg strip. Selain itu dapat digunakan sebagai referensi peneliti selanjutnya dalam rangka pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya Imunokromatografi.

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Penelitian ini bersifat deskriptif, dimaksudkan untuk menentukan nilai sensitifitas dan spesifisitas metode imunokromatografi Fokus Diagnostic HBsAg Strip untuk mendeteksi HBsAg dengan metode ELISA sebagai Standar baku.

Desain penelitian ini menggunakan *cross sectional* yaitu dengan melakukan pemeriksaan satu kali pada pasien selaku sampel. Sampel penelitian adalah pasien suspek hepatitis yang memeriksakan diri di Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Makassar sebanyak 60 orang sampel.

#### **B. Bahan dan Instrumen Penelitian**

##### **1. Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu Hepalisa HBsAg Indec Diagnostic, aquabides,

Fokus Diagnostic HBsAg Strip, dan specimen Serum.

##### **2. Instrumen Penelitian**

Instrumen yang digunakan pada penelitian ini antara lain: Mikroplate/mikrowel, mikropipet/klinipet, tips, tabung reaksi, Centrifuge, alat untuk pemeriksaan ELISA.

#### **C. Pengumpulan Data**

##### **1. Prosedur Pengujian Fokus Diagnostic HBsAg Strip**

- a. Strip dicelupkan ke dalam specimen serum, ditunggu beberapa menit lalu diangkat.
- b. Dibiarkan sampai 15 menit, kemudian dibaca hasil deteksi. Hasil uji tidak boleh dibaca setelah lewat dari 15 menit (fokus diagnostic).

##### **2. Pemeriksaan HBsAg Metode ELISA**

Specimen serum dan reagen, dibiarkan pada suhu ruangan.

Alat ELISA (Profesional Lab-Adaltis) dinyatakan, sampel dan reagen dimasukkan pada alat tersebut sesuai dengan posisinya masing-masing.

Alat diprogram untuk pemeriksa HBsAg, masukkan jumlah dan kode sampel pada alat prosedur tampil pada layar monitor.

Specimen serum dan reagen, dibiarkan pada suhu ruangan.

Alat ELISA (Profesional Lab-Adaltis) dinyatakan, sampel dan reagen dimasukkan pada alat tersebut sesuai dengan posisinya masing-masing.

Alat diprogram untuk pemeriksa HBsAg, masukkan jumlah dan kode sampel pada alat prosedur tampil pada layar monitor.

1. Control negatif 50 ul diisi kedalam baris B1 dan C1, control positif 50 ul diisi kedalam baris D1, selanjutnya diisi oleh 50 ul sampel.
2. Enzyme conjugate 50 ul ditambahkan kedalam sumur masing-masing sumur kecuali A1.
3. Inkubasi 80 menit pada suhu 37<sup>0</sup>, kemudian cuci 6 kali dengan buffer yang sudah di encerkan.
4. Substrat/TMB A 50 µl dan TMB B 50 µl diisi kedalam semua sumur, goyang hingga bercampur dengan baik.
5. Di inkubasi pada tempat yang gelap selama 30 menit pada suhu ruangan.
6. Larutan stop 100 µl di tambahkan kedalam semua sumur.
  - a. Hasil terbaca pada alat mikro ELISA melalui optik density pada 450 nm.

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil Penelitian**

Berdasarkan hasil penelitian uji validasi fokus diagnostic HBsAg strip untuk deteksi HBsAg

dengan metode ELISA sebagai standar baku, dengan sampel penelitian sebanyak 60 orang pasien di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar didapatkan hasil sebagai berikut.:

Tabel 1. Hasil pemeriksaan HBsAg dengan metode ELISA sebagai gold standar

Hasil pemeriksaan HBsAg dengan metode ELISA					
Positif		Negatif		Jumlah	
n	%	N	%	N	%
34	56.67	26	43.33	60	100

Hasil pemeriksaan HBsAg menggunakan metode ELISA sebagai standar baku terhadap 60 spesimen serum dengan hasil 34 (56.67%) sampel positif dan 26 (43.33%) sampel negatif..

Tabel 2. Hasil deteksi HBsAg dengan fokus diagnostic HBsAg strip sebagai teknik yang diuji

Hasil deteksi HBsAg dengan fokus diagnostic HBsAg strip					
Positif		Negatif		Jumlah	
n	%	N	%	N	%
32	53.34	28	46.66	60	100

Hasil deteksi atau pemeriksaan HBsAg dengan menggunakan Fokus Diagnostic HBsAg Strip terhadap 60 spesimen serum dengan hasil 32 (53.34%) positif dan 28 (46.66%) sampel negatif.

Hasil deteksi atau pemerikdaan HBsAg menggunakan fokus diagnostic HBsAg strip sebagai teknik yang diuji dibandingkan dengan hasil ELISA sebagai standar baku, dinilai pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil teknik fokus diagnostic HBsAg strip dan hasil ELISA sebagai standar baku

Teknik diagnosis HBsAg	Teknik ELISA sebagai standar baku		
	+	-	
Fokus diagnostic HBsAg strip sebagai teknik yang diuji	+	3 2	0
	-	2	26

Positif benar : 32 .positif palsu : 0  
Negatif benar : 26 negatif palsu : 2

Pemeriksaan benar = 58 (32 positif benar + 26 negatif benar)

Pemeriksaan palsu = 2 (dua positif palsu dan nol negatif palsu)

Sensitivitas, spesifisitas dan nilai prediksi hasil penelitian ini adalah sebagai berikut.

$$\text{Sensitivitas} = \frac{32}{32 + 2} \times 100\% = 94.11\%$$

$$\text{Spesifisitas} = \frac{26}{26 + 0} \times 100\% = 100\%$$

$$\text{Nilai ramal positif} = \frac{32}{32 + 0} \times 100\% = 100\%$$

$$\text{Nilai ramal negatif} = \frac{26}{26 + 2} \times 100\% = 92.85\%$$

## B. Pembahasan

Virus hepatitis B (VHB) merupakan virus DNA yang tergolong virus *hepadnaviridae* yang dapat dibedakan atas tiga macam partikel virus, yaitu partikel bulat, partikel tubular dan partikel dane. Bagian luar dari virus ini adalah protein *envelope* lipoprotein, sedangkan bagian dalam berupa nukleokapsid atau *core*. Nukleokapsid mengandung kode genetik virus hepatitis B yang terdiri DNA beruntai ganda parsial dengan panjang 3200 nukleotida. Genom virus hepatitis B berbentuk sirkuler ini memiliki empat *open reading frame* (ORF) yang saling tumpang tindih secara parsial protein envelope yang dikenal sebagai *antigen surface* atau selubung HbsAg.

Proses replikasi virus hepatitis B berlangsung cepat. siklus hidup hepatitis B dimulai dengan menempelnya virion virus hepatitis B pada reseptor di permukaan sel hati. Setelah terjadi fusi membran, partikel core kemudian ditransfer ke sitosol dan selanjutnya dilepaskan ke dalam nukleus (*genome release*). DNA virus hepatitis B yang masuk ke dalam nukleus mula-mula berupa dua untai DNA yang tidak sama panjang (*partly double stranded*) yang kemudian akan terjadi proses DNA repair berupa memanjangnya rantai DNA yang pendek (DNA<sup>+</sup> sehingga menjadi dua untai DNA yang sama panjang (*fully double stranded*) atau covalently closed circle DNA (ccDNA) (Harjono, 2003).

Terdapat berbagai metode diagnosis laboratorium yang dapat digunakan dalam pemeriksaan serologi HBsAg. Salah satu metode yang banyak dipakai oleh berbagai rumah sakit dan telah banyak dikembangkan yaitu metode

imunokromatografi. Selain biayanya yang relatif murah, metode ini juga memiliki nilai praktis yang tinggi. Waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan hasil tes juga relatif singkat (Handoyo I, 2003).

Penelitian ini menggunakan metode imunokromatografi fokus diagnostic sebagai teknik yang diuji dengan ELISA sebagai standar baku. Dari 60 sampel pemeriksaan HBsAg didapatkan hasil pada metode ELISA jumlah sampel yang hasilnya positif sebanyak 34 sampel sedangkan pada metode imunokromatografi fokus diagnostic sebanyak 32 sampel positif.

Dari hasil penelitian ini menunjukkan validasi HBsAg metode imunokromatografi fokus diagnostic dalam mendeteksi antigen spesifik memberikan hasil sebagai berikut. Sensitivitasnya adalah 94.11%, spesifisitasnya 100%, sedangkan nilai ramal positifnya 100% dan nilai ramal negatifnya 92.85%. Dari 60 sampel yang diperiksa ternyata didapat dua sampel yang hasilnya berbeda antara kedua metode tersebut. Ini terjadi karena kedua sampel tersebut kadarnya masih sangat rendah sehingga pada metode imunokromatografi fokus diagnostic belum dapat terdeteksi, sedangkan pada metode ELISA kadar yang sangat rendah dapat terdeteksi. Metode ELISA sangat sensitif sehingga dapat mendeteksi antigen dengan konsentrasi yang rendah dan memiliki nilai sensitivitas 98% - 100%. Disamping itu sangat cocok untuk skrining massal karena dalam satu kali pembacaan bisa sampai 96 tes. Harus diperhatikan hal-hal yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan sehingga hasil positif yang diperoleh bukan positif palsu. Adapun hal-hal yang mempengaruhi seperti kestabilan dari reagen, sampel dan waktu inkubasi. Reagen dari ELISA sangat tidak stabil terhadap zat-zat lain, mikroorganisme. Oleh karena itu persiapan reagen harus selalu dibuat baru sebelum bekerja, wadah dan aquades yang digunakan harus benar-benar bersih dan steril karena akan mempengaruhi reaksinya. Disamping itu waktu inkubasi harus tepat dan sampel yang digunakan tidak boleh hemolisis. Sedangkan pada metode imunokromatografi tidak begitu peka terhadap hal-hal tersebut di atas sehingga faktor kesalahan dapat dihindari, namun konsentrasi sampel yang sangat rendah belum terdeteksi namun hanya dalam bentuk kualitatif.

Atas dasar hasil dan pembahasan penelitian ini dapat ditarik suatu kesimpulan: Validitas Fokus diagnostic HBsAg Strip untuk deteksi HBsAg dengan ELISA sebagai standar baku didapatkan sensitivitas 94.11%, spesifisitasnya 100%, nilai ramal positif 100% dan nilai ramal negatif 92.85%. Dengan demikian Fokus Diagnostic HBsAg Strip dapat digunakan untuk mendeteksi HBsAg dalam suatu spesimen atau bahan pemeriksaan.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

Atas dasar hasil dan pembahasan penelitian ini dapat ditarik suatu kesimpulan: Validitas Fokus diagnostic HBsAg Strip untuk deteksi HBsAg dengan ELISA sebagai standar baku didapatkan sensitivitas 94.11%, spesifisitasnya 100%, nilai ramal positif 100% dan nilai ramal negatif 92.85%.

### B. Saran

Dengan demikian Fokus Diagnostic HBsAg Strip dapat digunakan untuk mendeteksi HBsAg dalam suatu spesimen atau bahan pemeriksaan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Baratawidjaja KG, 2002. *Imunologi Dasar*, Edisi V, Jakarta, Fakultas kedokteran Universitas Indonesia
- Dalimartha S, 2004. *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Hepatitis*, Cetakan ke-7. Jakarta, Penebar Swadaya
- Handoyo I, 2003. *Pengantar Imunologi Dasar*, Cetakan 1, Surabaya, Airlangga University
- Hardjoeno, 2007. *Kapita Selekta Hepatitis Virus Dan Interpretasi Hasil Laboratorium*, Lembaga Penerbitan Universitas Hasanuddin (LEPHAS)
- Jawetz, Melnick, Adelberg's. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology)*. Buku 2, Edisi Pertama, Jakarta: Salemba Medika.
- Rantam FA, 2003. *Metode Imunologi*, Cetakan I, Surabaya, Airlangga University
- Sastroasmoro S dan Ismael S, 1995. *Dasar Dasar Penelitian Klinik*. Jakarta: Bina Aksara