

IMUNOSEROLOGI UNTUK PERGURUAN TINGGI

Penulis :

Indra Taufik Sahli
Lusia Sudarmi
Agnes Felicia Lubis
Ria Amelia
Haerani Harun
Erawati
Fitri Rahmi Fadhilah
Suyarta Efrida Pakpahan
Thaslifa
Meri



IMUNOSEROLOGI UNTUK PERGURUAN TINGGI

**Indra Taufik Sahli
Lusia Sudarmi
Agnes Felicia Lubis
Ria Amelia
Haerani Harun
Erawati
Fitri Rahmi Fadhilah
Suyarta Efrida Pakpahan
Thaslifa
Meri**



GET PRESS INDONESIA

IMUNOSEROLOGI UNTUK PERGURUAN TINGGI

Penulis :

Indra Taufik Sahli
Lusia Sudarmi
Agnes Felicia Lubis
Ria Amelia
Haerani Harun
Erawati
Fitri Rahmi Fadhillah
Suyarta Efrida Pakpahan
Thaslifa
Meri

ISBN : 978-623-125-184-8

Editor : Dr. Neila Sulung, S.Pd., Ns., M.Kes.

Penyunting : Rantika Maida Sahara., S.Tr. Kes

Desain Sampul dan Tata Letak : Atyka Trianisa, S.Pd

Penerbit : GET PRESS INDONESIA

Anggota IKAPI No. 033/SBA/2022

Redaksi :

Jln. Palarik Air Pacah No 26 Kel. Air Pacah
Kec. Koto Tangah Kota Padang Sumatera Barat
Website : www.getpress.co.id
Email : adm.getpress@gmail.com

Cetakan pertama, Mei 2024

Hak cipta dilindungi undang-undang
Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan
dengan cara apapun tanpa izin tertulis dari penerbit.

KATA PENGANTAR

Segala Puji dan syukur atas kehadiran Allah SWT dalam segala kesempatan. Sholawat beriring salam dan doa kita sampaikan kepada Nabi Muhammad SAW. Alhamdulillah atas Rahmat dan Karunia-Nya penulis telah menyelesaikan Buku Immunoserologi Untuk Perguruan Tinggi ini.

Buku Ini Membahas Immunoprofilaskis, Autoimunitas, Defisiensi Imun, Pemeriksaan Metode Immunokromatografi Untuk Deteksi Antibodi, Pemeriksaan Metode Immunokromatografi Untuk Deteksi Antigen, Pemeriksaan ELISA Untuk Deteksi Antigen, Pemeriksaan HBsAg, Pemeriksaan ELISA Untuk Deteksi Antibodi, Pemeriksaan Antibodi Ig G/Ig M Rubella, Pemeriksaan ECLIA Untuk Deteksi Antibodi Pemeriksaan Ig E, Pemeriksaan IMBI Untuk Deteksi Antibodi Pemeriksaan Ig M Salmonella Typhi 09.

Proses penulisan buku ini berhasil diselesaikan atas kerjasama tim penulis. Demi kualitas yang lebih baik dan kepuasan para pembaca, saran dan masukan yang membangun dari pembaca sangat kami harapkan.

Penulis ucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah mendukung dalam penyelesaian buku ini. Terutama pihak yang telah membantu terbitnya buku ini dan telah mempercayakan mendorong, dan menginisiasi terbitnya buku ini. Semoga buku ini dapat bermanfaat bagi masyarakat Indonesia.

Padang, Mei 2024

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	ix
BAB 1 IMUNOPROFILAKSIS.....	1
1.1 Pengertian Imunoprofilaksis	1
1.2 Vaksin	2
1.3 Jenis - Jenis Vaksin.....	4
1.3.1 Vaksin Hidup atau di lemahkan.....	4
1.3.2 Vaksin yang dimatikan	4
1.3.3 Vaksin Toksoid.....	5
1.3.4 Vaksin Subunit (protein, polisakarida dan konjugated)	7
1.3.5 Vaksin <i>Virus Like Particle</i> (VLP)	11
1.3.6 Vaksin DNA dan Vaksin mRNA.....	12
1.3.7 Vaksin Vektor Virus.....	14
1.4 Komponen Vaksin	16
DAFTAR PUSTAKA	19
BAB 2 AUTOIMUNITAS	21
2.1 Pendahuluan.....	21
2.2 Definisi Autoimunitas.....	22
2.3 Kriteria Autoimunitas	22
2.4 Petanda Penyakit Autoimun	24
2.5 Faktor Penyebab Autoimunitas/Etiologi.....	24
2.5.1 Faktor Genetik.....	24
2.5.2 Jenis Kelamin.....	27
2.5.3 Infeksi dan Faktor Lingkungan.....	28
2.6 Mekanisme Reaksi Autoimunitas.....	29
2.6.1 Reaksi Autoimunitas Tipe 1.....	29
2.6.2 Reaksi Autoimunitas Tipe 2 (Sitotoksik)	29
2.6.3 Reaksi Autoimunitas Tipe 3 (Kompleks Imun)	29
2.6.4 Reaksi Autoimunitas Tipe 4 (<i>Cell-Mediated</i> <i>Autoimmune</i>)	30
2.7 Jenis Penyakit / Spektrum Penyakit Autoimun	31
2.7.1 Penyakit Autoimun Spesifik Organ.....	33

2.7.2 Penyakit Autoimun Non Organ Spesifik.....	35
DAFTAR PUSTAKA.....	37
BAB 3 DEFISIENSI IMUN	39
3.1 Pendahuluan	39
3.2 Jenis Immunodefisiensi.....	39
3.3 Immunodefisiensi Primer	41
3.3.1 Defek Sistem Imun Bawaan	41
3.3.2 Defek Sistem Imun Didapat.....	43
3.4 Immunodefisiensi Sekunder	46
3.4.1 <i>Acquired immune deficiency syndrome</i> (AIDS).....	47
3.4.2 Mekanisme immunodefisiensi pada infeksi HIV	48
3.5 Pemeriksaan Laboratorium.....	50
3.5.1 Uji Saring	51
3.5.2 Pemeriksaan Lanjutan.....	52
DAFTAR PUSTAKA.....	56
BAB 4 PEMERIKSAAN METODE	
IMUNOKROMATOGRAFI UNTUK DETEKSI ANTIBODI ...	57
4.1 Pendahuluan	57
4.2 Komponen Immunokromatografi	58
4.2.1 Backing Card	58
4.2.2 Antibodi	59
4.2.3 Koloid Emas (<i>Gold Coloid</i>) dan Macam-macam label LFA	59
4.2.4 Membran Nitroselulosa.....	60
4.3 Desain Strip LFA.....	61
4.4 Prosedur pembuatan LFA	63
DAFTAR PUSTAKA.....	66
BAB 5 PEMERIKSAAN METODE	
IMUNOKROMATOGRAFI UNTUK DETEKSI ANTIGEN.....	69
5.1 Pendahuluan	69
5.2 Prinsip Dasar Uji Aliran Lateral.....	70
5.3 Jenis Immunokromatografi.....	72
5.3.1 Metode <i>Sandwich</i>	72
5.3.2 Metode Kompetitif.....	74
5.3.3 Deteksi Multipleks	76
DAFTAR PUSTAKA.....	79

BAB 6 PEMERIKSAAN ELISA UNTUK DETEKSI

ANTIGEN PEMERIKSAAN HBsAg	81
6.1 Definisi Virus Hepatitis.....	81
6.2 Struktur dan Morfologi Virus Hepatitis B.....	82
6.3 Struktur Penanda Serologi Virus Hepatitis B	83
6.4 Infeksi Virus Hepatitis B	85
6.4.1 Respon Imun Tubuh pada Infeksi Virus Hepatitis B.....	85
6.4.2 Gejala Klinis Infeksi Virus Hepatitis B.....	86
6.4.3 Penularan infeksi Virus Hepatitis B	86
6.4.4 Diagnosa infeksi Virus Hepatitis B.....	87
6.4.5 Macam-macam Pemeriksaan Imunoserologi HBsAg	88
6.5 Pemeriksaan HBsAg Dengan Metode Elisa.....	92
6.5.1 Tujuan Pemeriksaan ELISA HbsAg.....	93
6.5.2 Alat dan Bahan ELISA HBsAg.....	93
6.5.3 Prinsip Pemeriksaan HbsAg Metode ELISA	94
6.5.4 Prosedur Pemeriksaan ELISA	95
6.5.5 Hasil pemeriksaan Hepatitis B Metode ELISA	96
6.5.6 Keterangan Pemeriksaan HbsAg Metode ELISA ..	97
DAFTAR PUSTAKA	99

BAB 7 PEMERIKSAAN ELISA UNTUK DETEKSI

ANTIBODI	101
7.1 Pendahuluan.....	101
7.2 Jenis-Jenis Pemeriksaan ELISA.....	102
7.2.1 ELISA Direct.....	102
7.2.2 ELISA Indirect.....	102
7.2.3 ELISA Sandwich.....	103
7.2.4 ELISA Kompetitif.....	103
7.3 Analisis ELISA	103
7.4 Faktor-faktor yang mempengaruhi pemeriksaan ELISA.....	107
DAFTAR PUSTAKA	109

BAB 8 PEMERIKSAAN RUBELLA

8.1 Pendahuluan.....	111
8.2 Rubella	111
8.3 Gambaran Klinis Rubella.....	113

8.4 Patogenesis Rubella	115
8.5 Pemeriksaan laboratorium Rubella	116
8.5.1 Pengambilan Spesimen.....	117
8.5.2 Diagnosis Rubella	118
8.6 Pengobatan Rubella	123
DAFTAR PUSTAKA.....	125
BAB 9 PEMERIKSAAN ECLIA UNTUK DETEKSI	
ANTIBODI IgE.....	127
9.1 Pendahuluan	127
9.2 Immunoglobulin E.....	128
9.3 <i>Electro Chemiluminescence Immunoassay</i> (ECLIA)	132
9.3.1 Dasar Teori.....	132
9.3.2 Prinsip uji.....	133
9.3.3 Sampel uji.....	136
9.3.4 Label uji.....	136
9.3.5 Kelebihan	136
9.3.6 Kekurangan	137
DAFTAR PUSTAKA.....	138
BAB 10 METODE IMBI UNTUK DETEKSI ANTIBODI	
IGM SALMONELLA TYPHI 09	141
10.1 Pendahuluan	141
10.2 TUBEX TF (IgM-Anti Salmonella)	142
10.3 Validitas Uji Serologi Immunoglobulin M Anti Salmonella typhi	148
10.4 Respon Imun Terhadap Salmonella sp	149
DAFTAR PUSTAKA.....	152
BIODATA PENULIS	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1. Respon Imun Terhadap Vaksin	3
Gambar 1.2. Mekanisme Kerja Vaksin Toksoid.....	6
Gambar 1.3. Vaksin Polisakarida	8
Gambar 1.4. Vaksin Konjugat.....	9
Gambar 1.5. Presentasi antigen dan interaksi dengan sel T dalam sistem imunitas adaptif.....	10
Gambar 1.6. Vaksin DNA	13
Gambar 1.7. Mekanisme vaksin vektor virus menginduksi respons seluler dan viantibodi spesifik	15
Gambar 1.8. Mekanisme Kerja Adjuvant	17
Gambar 2.1. Mekanisme Mikroba Memacu Autoimunitas	28
Gambar 3.1. Immunodefisiensi sekunder disebabkan oleh faktor-faktor eksternal.....	47
Gambar 3.2. Virion HIV.....	48
Gambar 3.3. Infeksi HIV	50
Gambar 4.1. <i>Backing card</i> pada alat LM 5.000 Laminating system (BioDot)	58
Gambar 4.2. Dasar penyusunan kit imunokromatografi.....	61
Gambar 4.3. Ilustrasi susunan komponen strip imunokromatografi langsung/ <i>direct</i>	62
Gambar 4.4. Ilustrasi susunan komponen strip imunokromatografi tidak langsung/ <i>indirect</i>	62
Gambar 4.5. Ilustrasi susunan komponen strip imunokromatografi kompetitif.....	63
Gambar 4.6. Proses dispensing antigen pada <i>test line</i> , dan antibodi pada <i>control line</i> pada membran nitroselulosa	64
Gambar 4.7. Tahapan Laminating, Cutting, Pengemasan dan Uji kit LFA.....	65
Gambar 5.1. Skema dasar alat imunokromatografi.....	71

Gambar 5.2. Proses pengikatan antigen pada antibodi pada bantalan konjugat (larutan) dan antibodi pada garis tes.....	71
Gambar 5.3. Reaksi pada metode <i>sandwich</i>	72
Gambar 5.4. Interpretasi hasil imunokromatografi metode <i>sandwich</i>	73
Gambar 5.5. Skema reaksi ikatan pada imunokromatografi kompetitif.....	74
Gambar 5.6. Interpretasi hasil pada imunokromatografi metode kompetitif.....	75
Gambar 5.7. Model arsitektur kaset imunokromatografi multipleks dan variasi <i>probe</i> yang digunakan.....	77
Gambar 5.8. Variasi hasil positif pada kaset tunggal dengan beberapa garis tes.....	77
Gambar 5.9. Kaset pemeriksaan narkoba 6 Parameter dengan strip bersusun.	78
Gambar 6.1. Fase pembentukan marker serologi infeksi HBV	83
Gambar 6.2. Pemeriksaan ELISA metode <i>sandwich</i>	90
Gambar 6.3. Struktur Antigen Sandwich ELISA untuk mendeteksi HbsAg	91
Gambar 6.4. Contoh Kit Pemeriksaan ELISA Hepatitis B.....	92
Gambar 6.5. Contoh Layar ELISA Reader HbsAg (Humanreader).....	97
Gambar 6.6. Contoh Mikroplate ELISA HbsAg yang terjadi sebelum penambahan larutan Stop	97
Gambar 7.1. Hasil Pemeriksaan ELISA	104
Gambar 7.2. Kurva Standar ELISA.....	104
Gambar 7.3. Pengenceran Serial ELISA.....	105
Gambar 7.4. ELISA Reader	106

Gambar 8.1. Plot respon imun normal terhadap infeksi virus rubella (kiri), struktur virus rubella termasuk tiga antigen imunogenik, yaitu dua antigen envelope (E1 dan E2) dan satu antigen kapsid (C), serta RNA untai tunggal/ssRNA (kanan)	113
Gambar 8.2. Pasien terinfeksi rubella	114
Gambar 8.3. Respon antibodi spesifik Rubella pada infeksi primer	119
Gambar 9.1. Skema ilustrasi proses emisi cahaya pada permukaan elektroda pada elektrokimialuminesensi	128
Gambar 9.2. Struktur Immunoglobulin E (IgE)	130
Gambar 9.3. Prinsip interaksi ECLIA a) Langsung/ direct ; b) Kompetitif ; c) Sandwich	133
Gambar 9.4. Sandwich heterogen ECLIA	134
Gambar 9.5. ECLIA kompetitif	135
Gambar 10.1. Skala Warna Pemeriksaan IgM Anti Salmonella, merk TUBEX	143
Gambar 10.2. Mekanisme hasil negatif dan positif	143
Gambar 10.3. Mekanisme hasil positif	144
Gambar 10.5. Memipet reagen coklat pada well/ sumuran	146
Gambar 10.6. Inkubasi 2 menit	146
Gambar 10.7. Penambahan reagen biru	147
Gambar 10.9. Menutup Well	147
Gambar 10.10. Menempatkan pada magnet skala warna	148
Gambar 10.11. Membandingkan dengan skala warna	148
Gambar 10.12. Mekanisme respon imun terhadap salmonella sp	151

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Kriteria Autoimunitas	23
Tabel 2.2. Hubungan Penyakit Autoimun dan Alel MHC.....	25
Tabel 2.3. Gen yang berperan pada penyakit autoimun kompleks secara genetis	26
Tabel 2.4. Defek Gen penyebab Autoimunitas.....	27
Tabel 2.5. Spektrum Penyakit Autoimunitas.....	31
Tabel 2.6. Locus Suseptibilitas berkaitan dengan SLE...	35
Tabel 3.1. Penyakit yang disebabkan karena defisiensi dari komponen sistem imun.....	45
Tabel 3.2. Tes Laboratorium Awal, tambahan dan lanjutan pemeriksaan imunodefisiensi.....	54
Tabel 6.1. Penanda pemeriksaan serologi Virus Hepatitis B	84
Tabel 6.2. Perbandingan hasil pemeriksaan Hepatitis B metode ELISA (HBsAg) yang menunjukkan nilai sensitivitas.....	96
Tabel 6.3. Perbandingan hasil pemeriksaan Hepatitis B metode ELISA (HBsAg) yang menunjukkan nilai spesifisitas	96

BAB 1

IMUNOPROFILAKSIS

Oleh Indra Taufik Sahli

1.1 Pengertian Imunoprofilaksis

Imunoprofilaksis merupakan cara pencegahan terhadap penyakit menular melalui imunisasi yang diperoleh individu baik secara aktif maupun pasif. Imunoprofilaksis efektif untuk pencegahan penyakit menular (Novita, 2020). Imunisasi aktif dapat diperoleh melalui proses alami (infeksi) atau buatan (vaksin). Memori imunologis kemudian berkembang dan melindungi individu dari infeksi ulang. Sebagian besar vaksin yang disuntikan ke tubuh manusia akan menghasilkan antibodi, dan beberapa lainnya menghasilkan respons sel T. Antibodi yang dihasilkan oleh vaksin dapat mencegah patogen berikatan dengan sel target atau dapat mencegah aksi racun yang dilepaskan dari patogen; keduanya merupakan contoh antibodi penetralisir. Antibodi juga dapat mengaktifkan komplemen dan menstimulasi fagositosis dan pembunuhan yang dimediasi sel Natural Killer (NK). Sel T CD8+ yang diinduksi oleh vaksin dapat menghambat replikasi virus dengan mengeluarkan interferon atau yang lebih sering dengan membunuh sel yang terinfeksi (Goldsby et al., 2010).

Imunisasi pasif dibedakan menjadi imunisasi pasif alami dan pasif buatan. Imunisasi pasif alami terjadi dimana antibodi yang telah terbentuk sebelumnya ditransfer ke penerima, terjadi secara alami melalui transfer antibodi ibu melintasi plasenta ke janin yang sedang berkembang. Antibodi ibu terhadap difteri, tetanus, *streptococcus*, rubeola, rubella, gondongan dan virus polio semuanya memberikan perlindungan pasif terhadap janin yang sedang berkembang. Sedangkan imunisasi pasif buatan yang diberikan dalam bentuk antibodi kepada individu yang terpapar patogen. Contohnya jika seseorang di gigit ular berbisa maka diberikan antibodi dalam bentuk anti bisa ular. Karena imunisasi pasif tidak mengaktifkan sistem kekebalan tubuh maka imunisasi ini tidak

menghasilkan respon memori dan perlindungan yang diberikan bersifat sementara.

1.2 Vaksin

Vaksin adalah produk biologis yang dapat digunakan dengan aman untuk menginduksi respon imun yang memberikan perlindungan terhadap infeksi dan atau penyakit pada paparan berikutnya terhadap suatu patogen. Untuk mencapai hal ini, vaksin harus mengandung antigen yang berasal dari patogen atau diproduksi secara sintesis untuk mewakili komponen patogen. Komponen penting dari sebagian besar vaksin adalah satu atau lebih antigen protein yang menginduksi respon imun yang memberikan perlindungan. Namun antigen polisakarida juga dapat menginduksi respon imun protektif dan merupakan dasar dari vaksin yang telah dikembangkan untuk mencegah beberapa infeksi bakteri, seperti pneumonia dan meningitis yang disebabkan oleh *Streptococcus pneumoniae* (Pollard & Bijker, 2021).

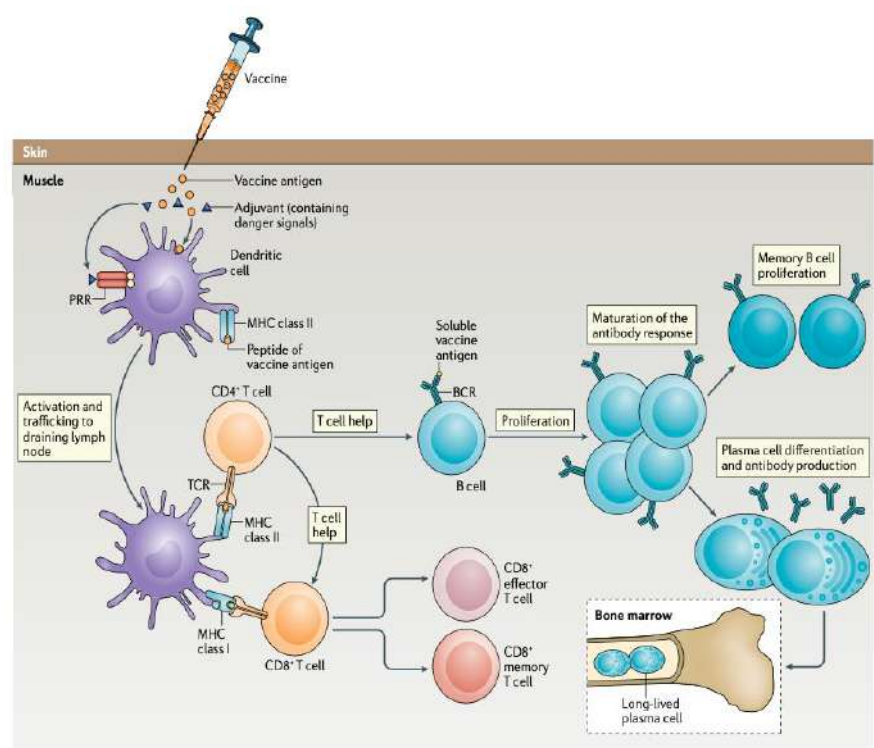
Organisasi Kesehatan Dunia telah menyatakan bahwa vaksin yang ideal memiliki sifat-sifat sebagai berikut :

1. Terjangkau di seluruh dunia
2. Stabil terhadap panas
3. Efektif setelah dosis tunggal
4. Berlaku untuk sejumlah penyakit
5. Diberikan melalui mukosa
6. Cocok diberikan di awal kehidupan

Respon imun terhadap vaksin seperti terdapat pada (gambar 1.1). Setelah vaksin disuntikkan ke otot dan antigen protein ditangkap oleh sel dendritik, yang diaktifkan melalui *pattern recognition receptor* (PRR) oleh sinyal bahaya dalam adjuvant, dan kemudian disebarluaskan ke kelenjar getah bening yang mengalirkan darah.

Presentasi peptida dari vaksin antigen protein oleh molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC) pada sel dendritik mengaktifkan sel T melalui reseptor sel T. Dalam kombinasi dengan pemberian sinyal (melalui antigen terlarut) melalui reseptor sel B, sel T mendorong perkembangan sel B di

kelenjar getah bening. Di sini, perkembangan sel B yang bergantung pada sel T menghasilkan pematangan respons antibodi untuk meningkatkan afinitas antibodi dan menginduksi isotype antibodi yang berbeda. Produksi sel plasma berumur pendek, yang secara aktif mengeluarkan antibodi spesifik untuk vaksin protein, menghasilkan peningkatan jumlah antibodi serum selama 2 minggu berikutnya. Sel B memori juga diproduksi, yang memediasi memori imun. Sel plasma berumur panjang yang dapat terus memproduksi antibodi selama beberapa dekade berpindah untuk tinggal di sumsum tulang. Sel T memori CD8+ dapat berkembang biak dengan cepat ketika bertemu dengan patogen, dan sel T efektor CD8+ penting untuk menghilangkan sel yang terinfeksi (Pollard & Bijker, 2021).



Gambar 1.1. Respon Imun Terhadap Vaksin
Sumber : (Pollard & Bijker, 2021)

1.3 Jenis - Jenis Vaksin

Vaksinasi berperan penting dalam menjaga kesehatan masyarakat, sebagai garis pertahanan yang baik terhadap penyakit menular. Selama berabad-abad, konsep vaksinasi telah berkembang, sehingga menghasilkan beragam jenis vaksin. Ada beberapa metode yang digunakan untuk memproduksi vaksin. Vaksin dapat terdiri dari virus hidup yang dilemahkan, organisme atau virus yang tidak aktif, racun yang tidak aktif, atau segmen patogen seperti vaksin subunit dan konjugasi.

1.3.1 Vaksin Hidup atau di lemahkan

Vaksin hidup merupakan vaksin yang pertama kali ditemukan dan masih merupakan vaksin yang paling efektif, misalnya vaksin yang berhasil melawan cacar dan polio adalah vaksin hidup. Vaksin hidup menggunakan organisme yang tidak ganas sehingga tidak menyebabkan penyakit. Salah satu cara untuk mendapatkan organisme tidak mematikan adalah dengan menggunakan organisme yang telah berevolusi untuk tumbuh pada hewan. Misalnya saja virus penyebab cacar sapi yang sudah ada uji cobanya (Helbert, 2016).

Vaksin hidup yang dilemahkan biasanya memberikan perlindungan yang lebih tahan lama dibandingkan dengan vaksin yang dimatikan atau diinaktivasi.

Kelebihan vaksin jenis ini adalah

1. Vaksin hidup yang dilemahkan memberikan kekebalan yang tahan lama.
2. Seringkali, dosis tunggal sudah cukup.
3. Meniru infeksi alami, memberikan perlindungan yang kuat

Kekurangannya :

1. Tidak aman bagi individu dengan sistem imun lemah.
2. Memerlukan pendinginan selama penyimpanan dan pengangkutan.

1.3.2 Vaksin yang dimatikan

Mikroorganisme yang digunakan pada jenis vaksin ini telah dimatikan sehingga tidak dapat menyebabkan infeksi. Contohnya

adalah Vaksin terhadap penyakit seperti polio dan hepatitis. Inaktivasi patogen, biasanya melalui penggunaan panas atau bahan kimia seperti formaldehida atau formalin. Kemampuan patogen untuk bereplikasi terbatas tanpa mengorbankan strukturnya, sehingga sistem kekebalan tubuh masih dapat mengenali dan meresponsnya. Tidak seperti vaksin hidup yang dilemahkan, yang dapat kembali ke kondisi yang lebih ganas dan dapat menimbulkan penyakit, virus yang telah dibunuh atau dinonaktifkan tidak dapat bereplikasi sama sekali. Namun perlu dicatat bahwa vaksin yang tidak aktif biasanya memberikan perlindungan dalam jangka waktu yang lebih singkat dibandingkan vaksinasi hidup dan biasanya memerlukan pemberian dosis booster untuk mencapai kekebalan jangka panjang.

Kelebihannya:

1. Aman bagi sebagian besar individu, termasuk mereka yang memiliki sistem kekebalan tubuh lemah.
2. Tidak perlu pendinginan, memudahkan distribusi.

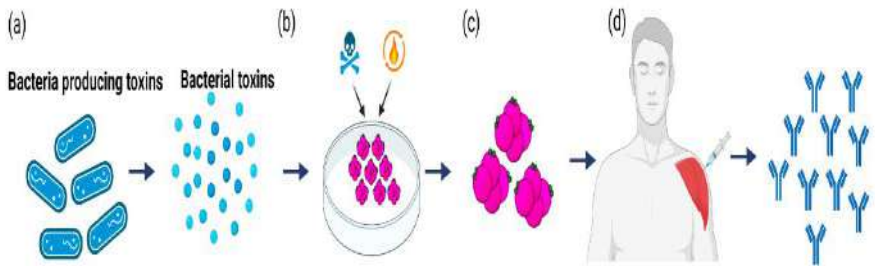
Kekurangannya :

1. Seringkali memerlukan beberapa dosis atau booster.
2. Imunitas mungkin tidak sekuat atau tahan lama seperti vaksin hidup yang dilemahkan.

1.3.3 Vaksin Toksoid

Vaksin toksoid adalah vaksin yang diproduksi dari racun bakteri patogen, termasuk penyebab difteri dan tetanus yang memproduksi eksotoksin. Eksotoksin ini menghasilkan banyak gejala penyakit akibat infeksi. Vaksin difteri dan tetanus dapat dibuat dengan memurnikan eksotoksin bakteri dan kemudian menonaktifkan toksin tersebut dengan formaldehida untuk membentuk toksoid. Vaksinasi dengan toksoid menginduksi antibodi anti-toksoid, yang juga mampu mengikat toksin dan menetralkan dampaknya. Kondisi produksi vaksin toksoid harus dikontrol secara ketat untuk mencapai detoksifikasi tanpa modifikasi berlebihan pada struktur epitop. Masalah dalam memperoleh racun murni dalam jumlah yang cukup untuk menyiapkan vaksin telah diatasi dengan mengkloning gen

eksotoksin dan kemudian mengekspresikannya dalam sel inang yang mudah ditumbuhkan. Dengan cara ini, eksotoksin dalam jumlah besar dapat diproduksi, dimurnikan, dan selanjutnya dinonaktifkan (Goldsby et al., 2010).



Gambar 1.2. Mekanisme Kerja Vaksin Toksoid. Untuk memahami formulasi dan cara kerja vaksin toksoid: (a) Bakteri patogen mengeluarkan racun (eksotoksin) yang berkontribusi terhadap penyakit, (b) Toksin diinaktivasi atau dilemahkan dengan menggunakan panas atau formalin sehingga menghasilkan toksoid, (c) Toksoid diserap dengan adjuvant untuk meningkatkan respons imun, dan (d) Tubuh inang menghasilkan antibodi sebagai respons terhadap toksoid, memberikan kekebalan terhadap toksin.

Sumber ; (Gupta & Pellett, 2023).

Vaksin toksoid digunakan untuk melindungi terhadap racun bakteri dibandingkan bakteri itu sendiri. Beberapa infeksi bakteri tidak disebabkan oleh bakteri itu sendiri melainkan oleh racun yang dikeluarkannya. Dalam kasus tetanus, misalnya gejalanya bukan disebabkan oleh bakteri *Clostridium tetani* itu sendiri, melainkan oleh neurotoksin (tetanospasmin) yang dihasilkannya. Istilah “toksoid” mengacu pada imunisasi yang dikembangkan dengan menggunakan racun yang tidak aktif. Toksoid sering kali diklasifikasikan secara terpisah dari vaksinasi yang dimatikan atau diinaktivasi karena vaksinasi tersebut mengandung toksin yang tidak aktif, bukan kuman (Ahmad S, 2023).

Kelebihannya:

1. Efektif melawan penyakit yang disebabkan oleh racun bakteri.

2. Secara umum dapat ditoleransi dengan baik dengan efek samping yang minimal.

Kekurangannya :

1. Suntikan booster sering kali diperlukan.
2. Terbatas pada penyakit yang disebabkan oleh racun bakteri.

1.3.4 Vaksin Subunit (protein, polisakarida dan konjugated)

Vaksin subunit mengandung protein atau polisakarida yang telah dimurnikan dari patogen dan mengandung setidaknya satu epitop pelindung.

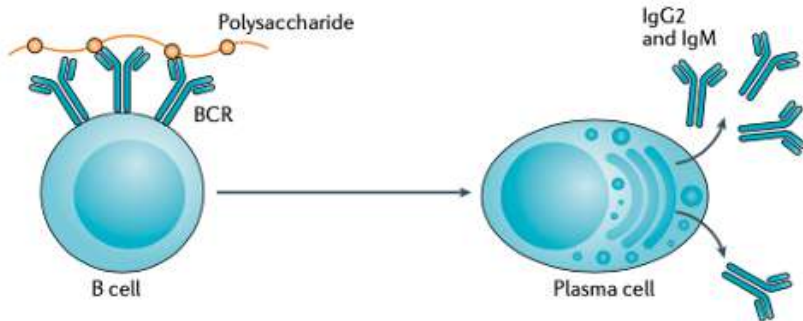
1. Vaksin Subunit Protein

Vaksin sub unit protein dari patogen dibuat dengan teknik rekombinan. Gen yang mengkode protein imunogenik apa pun dapat diklon dan diekspresikan dalam sel bakteri, ragi, atau mamalia menggunakan teknologi DNA rekombinan. Vaksin antigen rekombinan pertama yang disetujui untuk digunakan pada manusia adalah vaksin hepatitis B. Vaksin ini dikembangkan dengan mengkloning gen antigen permukaan utama virus hepatitis B (HBsAg) dan mengekspresikannya dalam sel ragi. Sel-sel ragi rekombinan ditumbuhkan dalam fermentor besar, dan HBsAg terakumulasi di dalam sel. Sel-sel ragi dipanen dan diganggu dengan tekanan tinggi untuk melepaskan HBsAg rekombinan, yang kemudian dimurnikan dengan teknik biokimia konvensional. Vaksin hepatitis B rekombinan ini telah terbukti menginduksi produksi antibodi pelindung (Goldsby et al., 2010).

2. Vaksin Subunit Polisakarida

Vaksin polisakarida dibuat dari molekul kapsul bakteri patogen. Kapsul polisakarida banyak terdapat pada permukaan bakteri sehingga mudah dimurnikan, dan biasanya tidak menimbulkan efek samping berbahaya ketika disuntikkan ke hewan atau manusia. Beberapa bakteri patogen, terutama *Streptococcus pneumoniae* (pneumococcus), bersifat virulen terutama karena kapsul polisakaridanya membuat bakteri tersebut resisten terhadap fagositosis. Namun polisakarida bukanlah protein sehingga tidak menyediakan epitop sel T.

Sebaliknya, polisakarida cenderung memicu respons T independent yang tidak menghasilkan limfosit memori dan tidak efektif dalam merangsang sistem kekebalan anak di bawah usia 2 tahun (Mak et al., 2013; Tortora et al., 2021).



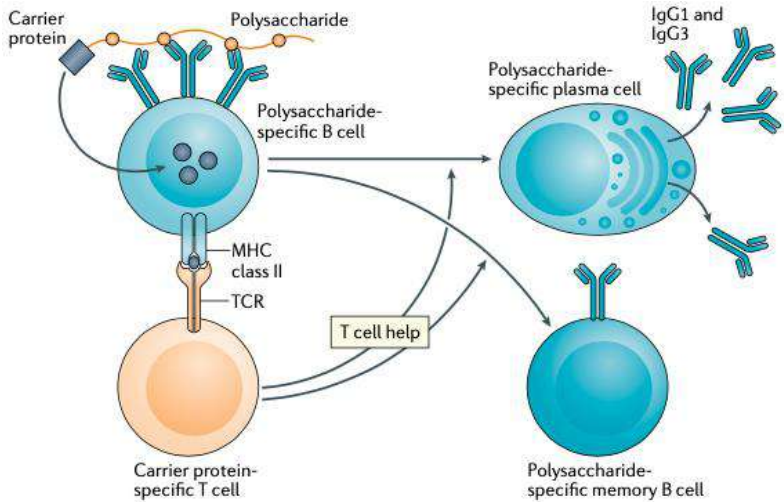
Gambar 1.3. Vaksin Polisakarida. Vaksin polisakarida menginduksi sel plasma menghasilkan antibodi melalui ikatan silang dengan reseptor sel B. Namun, pematangan afinitas respon antibodi dan induksi sel B memori tidak terjadi, sehingga antibodi yang diproduksi berumur pendek dan tidak ada respon imun pada bayi <2 tahun. Sumber; (Pollard & Bijker, 2021).

3. Vaksin konjugated

Vaksin konjugated telah dikembangkan dalam beberapa tahun terakhir untuk mengatasi respon imun anak yang buruk terhadap vaksin berbasis kapsul polisakarida. Vaksin konjugated merupakan gabungan antara polisakarida dengan protein pembawa seperti difteri atau toksoid tetanus. Dua komponen terpisah yang dihubungkan secara kimiawi menciptakan respons imun yang lebih kuat. Pendekatan ini telah menghasilkan vaksin *Haemophilus influenzae* tipe b (Hib) yang sangat sukses, yang memberikan perlindungan signifikan bahkan dalam waktu 2 bulan (Tortora et al., 2021).

Selain difteri dan tetanus yang digunakan sebagai protein pembawa, ada protein pembawa baru yang sangat

berguna yaitu *cross reacting material* 197 (CRM197) suatu bentuk toksoid difteri yang dimodifikasi. CRM197 telah terbukti aman dan efektif pada manusia, dan kini digunakan secara global dalam vaksin konjugasi terhadap bakteri berkapsul seperti *H. influenzae*, atau spesies *Pneumococcus* atau *Meningococcus*. Bahkan pada bayi, vaksin ini menginduksi respons antibodi yang tergantung sel T yang kuat dan menunjukkan pematangan afinitas (Mak et al., 2013).

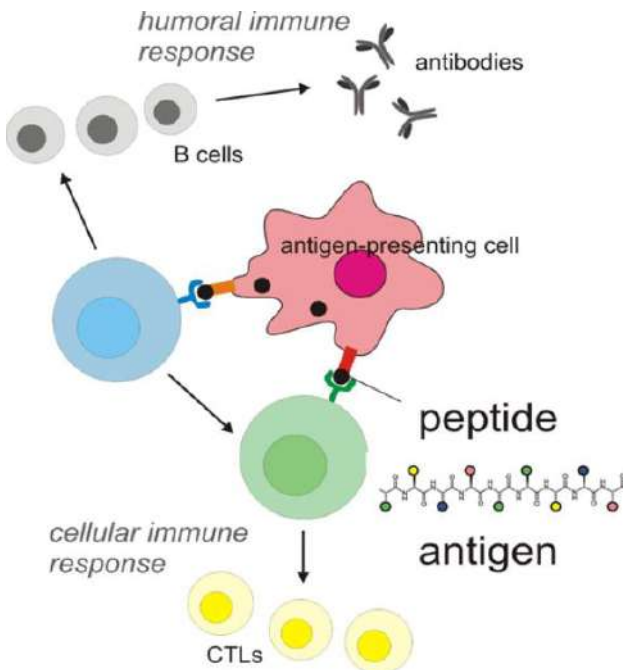


Gambar 1.4. Vaksin Konjugat. Vaksin konjugat protein-polisakarida dapat melibatkan sel T yang mengenali protein pembawa, serta sel B yang mengenali polisakarida. Sel T memberikan bantuan kepada sel B, yang menyebabkan pematangan afinitas dan Induksi sel B memori serta produksi antibodi berumur panjang dan peningkatan respon imun pada bayi. Sumber; (Pollard & Bijker, 2021).

4. Vaksin Peptida

Vaksin peptida adalah jenis vaksin yang menggunakan fragmen kecil dari protein yang disebut peptida sebagai antigen. Peptida ini dipilih karena mereka mewakili bagian-bagian dari patogen yang dianggap penting untuk memicu respons imun

yang spesifik. Peptida alami dan sintetik telah dieksplorasi sebagai kandidat vaksin. Peptida telah diproduksi melalui metode pemurnian konvensional dan teknologi DNA rekombinan. Jika peptida alami tidak bersifat imunogenik, peptida tersebut dapat dimodifikasi di laboratorium untuk menjadi imunogenik. Setelah peptida pelindung diidentifikasi dan dimurnikan, peptida tersebut dicampur dengan adjuvant yang mendorong penyerapannya oleh Antigen Presenting Cell penerima vaksin, termasuk sel dendritik. Peptida tersebut kemudian dipresentasikan silang pada MHC kelas II dan kelas I masing-masing ke sel Th dan Tc yang naif.



Gambar 1.5. Presentasi antigen dan interaksi dengan sel T dalam sistem imunitas adaptif.
Sumber; (Hamley, 2022).

Karena peptida secara definisi pendek, epitop yang terkandung dalam vaksin tersebut cenderung kecil, linier, dan non-

konformasi. Namun, sebagian besar epitop sel B pada seluruh patogen bersifat konformasi, sehingga antibodi yang dihasilkan sebagai respons terhadap vaksin peptida mungkin hanya memberikan perlindungan terbatas selama infeksi alami. Peptida harus mengandung tidak hanya epitop yang dikenali oleh reseptor sel T tetapi juga asam amino yang memungkinkannya berikatan dengan MHC. Alel MHC yang berbeda dapat mengikat dan menyajikan peptida tertentu dengan tingkat keberhasilan yang berbeda-beda, menyebabkan variasi dalam tingkat kekebalan yang ditimbulkan pada penerima vaksin. Menghubungkan peptida dengan protein pembawa untuk membentuk vaksin konjugat peptida dapat meningkatkan imunogenisitasnya.

Kelebihannya:

1. Sangat aman dengan efek samping yang minimal.
2. Cocok untuk individu dengan sistem imun lemah.
3. Lebih sedikit efek samping dibandingkan dengan vaksin sel utuh.

Kekurangannya:

1. Dosis berulang seringkali diperlukan untuk mendapatkan kekebalan yang memadai.
2. Imunitas mungkin kurang manjur dibandingkan vaksin hidup yang dilemahkan.

1.3.5 Vaksin *Virus Like Particle* (VLP)

Vaksin *Virus Like Particle* (VLP) merupakan vaksin yang menyerupai virus utuh tetapi tidak mengandung materi genetik virus apa pun. Meskipun tidak memiliki materi genetik virus dan bersifat non patogen, vaksin *Virus Like Particle* (VLP) ini secara efektif menimbulkan respons imun yang memberikan perlindungan terhadap *human papilloma virus* (HPV) (Tortora et al., 2021).

Kelebihannya;

1. VLP tidak mengandung materi genetik virus yang berbahaya, sehingga lebih aman dibandingkan vaksin virus hidup yang dilemahkan
2. VLP dapat menstimulasi respons imun yang kuat karena strukturnya menyerupai virus yang sebenarnya.

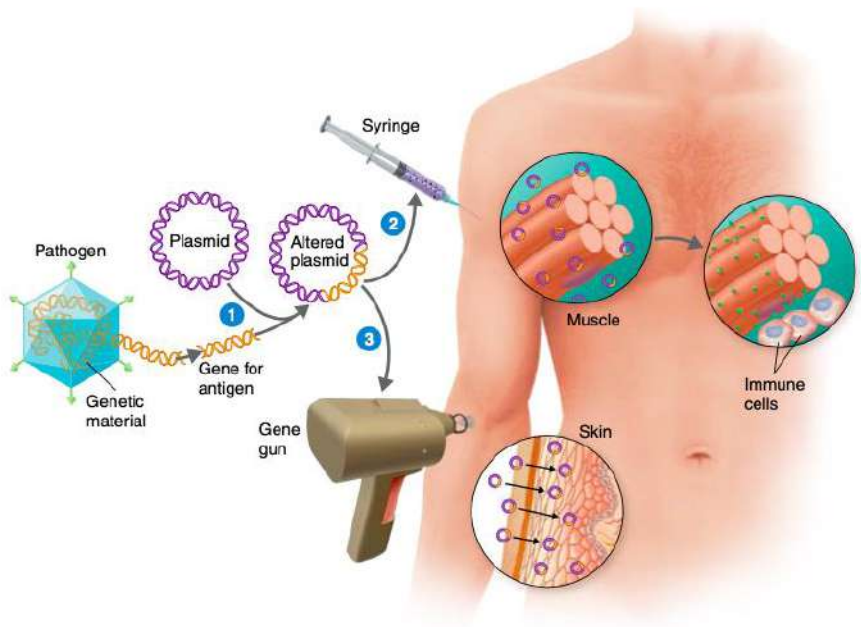
3. VLP umumnya lebih stabil dari pada virus lengkap karena mereka tidak memiliki materi genetik aktif yang dapat mengalami mutasi atau degradasi.

Kekurangannya;

1. Produksi VLP bisa menjadi mahal karena memerlukan teknologi bioproses yang canggih.
2. VLP tidak dapat bereplikasi dalam tubuh, sehingga membutuhkan booster untuk meningkatkan dan mempertahankan respons imun.

1.3.6 Vaksin DNA dan Vaksin mRNA

Vaksin Asam Nukleat, sering disebut vaksin DNA, merupakan salah satu vaksin terbaru dan paling menjanjikan. DNA telanjang atau terenkapsulasi yang mengkode antigen protein spesifik disuntikkan ke pasien sehingga sel penerima akan mensintesis protein tersebut. Meskipun tubuh penerima mensintesis protein tersebut, antigen tersebut dikenali sebagai benda asing, sehingga memicu respon imun. Suntikan dapat dilakukan dengan jarum konvensional atau lebih efisien dengan senjata gen yang menyalurkan vaksin ke banyak inti sel. Antigen yang dikodekan oleh vaksin DNA diekspresikan pada sel untuk menstimulasi imunitas humoral dan seluler. Vaksin DNA cenderung diberikan dalam jangka waktu yang lama, dengan memori imunologis yang baik (Tortora et al., 2021).



Gambar 1.6. Vaksin DNA. Gen yang mengkode antigen dikeluarkan dari 13antibodi, dimasukkan ke dalam plasmid, dan kemudian disuntikkan ke dalam inti sel sebagai bagian dari vaksin. Sejumlah kecil sel inang di tempat suntikan akan menerima vaksin dan menghasilkan antigen yang dikodekan oleh DNA-nya. Munculnya antigen kemudian merangsang respon imun.
Sumber ; (Tortora et al., 2021).

Vaksin DNA menawarkan keunggulan dibandingkan banyak vaksin yang sudah ada. Misalnya protein yang dikodekan diekspresikan pada inang dalam bentuk aslinya tidak ada denaturasi atau modifikasi. Oleh karena itu respons imun diarahkan pada antigen sama seperti yang diekspresikan oleh patogen. Vaksin DNA juga menginduksi imunitas humoral dan seluler. Untuk menstimulasi respon imun kedua belah pihak dengan vaksin non-DNA biasanya memerlukan imunisasi dengan sediaan hidup yang dilemahkan yang menimbulkan unsur risiko tambahan. Vaksin DNA juga menyebabkan ekspresi antigen yang berkepanjangan, sehingga menghasilkan memori imunologis yang signifikan (Goldsby et al., 2010).

Vaksin mRNA

Vaksin mRNA adalah rangkaian mRNA yang mengkode antigen spesifik yang dimasukkan ke dalam tubuh dan diekspresikan pada inang, sehingga menginduksi respon imun. Vaksin mRNA mencakup mRNA yang tidak diamplifikasi dan mRNA yang diamplifikasi sendiri. Mirip dengan vaksin DNA, vaksin mRNA memerlukan sistem pengiriman. Mereka mengaktifkan sistem imun bawaan dan adaptif, namun mekanisme kerjanya masih belum jelas. Dibandingkan jenis vaksin lainnya, vaksin mRNA memiliki beberapa keunggulan potensial seperti efisiensi, biaya produksi rendah, dan pengembangan cepat. Mereka dianggap aman karena RNA tidak menular dan dapat terdegradasi oleh proses seluler normal tanpa menyebabkan infeksi seluler atau mutagenesis insersi. Oleh karena itu, vaksin mRNA telah dikembangkan secara luas untuk vaksin COVID-19 pada manusia (Yao et al., 2023).

Kelebihannya:

1. Sangat efektif dalam merangsang sistem kekebalan tubuh.
2. Pengembangan dan produksi yang cepat untuk merespons ancaman yang muncul dengan cepat.

Kekurangannya:

1. Persyaratan penyimpanan yang sangat dingin dapat menghambat distribusi.
2. Data keselamatan jangka panjang masih dikumpulkan.

1.3.7 Vaksin Vektor Virus

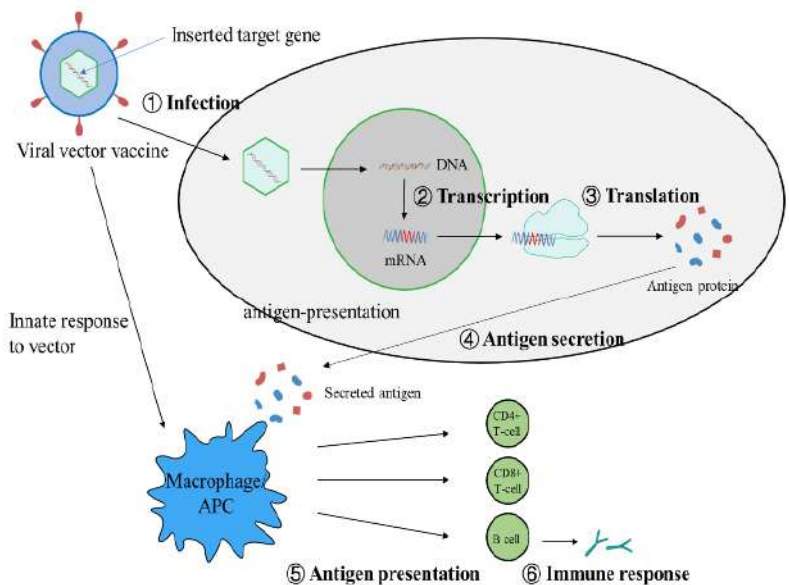
Vaksin yang digunakan untuk mengatasi penyakit COVID-19 salah satunya menggunakan vektor virus. Vaksin ini menggunakan Adenovirus simian. mRNA yang mengkode protein spike virus corona dimasukkan ke dalamnya. Mirip dengan vaksin mRNA, mRNA yang terkandung dalam virus dimasukkan ke dalam sel kekebalan. Setelah ini, sel kekebalan menghasilkan protein spike, yang memulai respons imun berikutnya. Vaksin vektor virus menggunakan virus yang tidak berbahaya untuk mengirimkan materi genetik patogen, sehingga memicu respons imun (Ahmad S, 2023)

Vaksin 15vektor virus dapat mengembangkan kekebalan terhadap vektor virus itu sendiri, dan hal ini dapat menjadi pedang bermata dua. Di satu sisi, banyak 15vektor virus dapat merangsang kaskade sinyal imun bawaan sebagai respons terhadap sel inang melalui *pathogen associated molecular patterns* (PAMP) yang terikat pada *pattern recognition receptors* (PRR), hal ini berbeda dengan vaksin konvensional, yang memerlukan adjuvant untuk mengaktifkan kekebalan bawaan.

Mekanisme vaksin 15vektor virus menginduksi respons seluler dan 15antibodi spesifik seperti pada (gambar 1.3). Tahapannya adalah sebagai berikut;

1. Infeksi

Vaksin vektor virus (Vektor virus yang dimodifikasi dengan gen target) disuntikkan ke dalam tubuh. Kemudian Vektor virus menginfeksi sel-sel tubuh, seperti sel otot atau sel dendritik.



Gambar 1.7. Mekanisme vaksin 15vektor virus menginduksi respons seluler dan 15antibodi spesifik.

Sumber; (Deng et al., 2022).

2. Transkripsi
DNA dari vektor virus diubah menjadi mRNA di dalam nukleus sel.
3. Translasi
mRNA diubah menjadi protein antigen di ribosom sel.
4. Sekresi antigen
Beberapa sel yang terinfeksi mensekresikan antigen protein ke ruang ekstraseluler.
5. Presentasi antigen
 - a. Protein antigen diproses dan ditampilkan pada permukaan sel bersama dengan molekul MHC
 - b. Sel-sel Antigen Presenting Cell (APC) seperti makrofag dan sel dendritik mendeteksi dan mempresentasikan antigen ke sel-sel T.
6. Respon Imun
 - a. Sel-sel T CD4+ dan CD8+ mengenali antigen yang dipresentasikan oleh sel APC.
 - b. Sel T CD4+ membantu aktivasi sel B dan sel T CD8+.
 - c. Sel B berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel plasma yang menghasilkan antibodi spesifik.
 - d. Sel T CD8+ membunuh sel-sel yang terinfeksi virus
 - e. Antibodi yang dihasilkan oleh sel plasma mengikat dan menetralkan virus, mencegah infeksi lebih lanjut.

1.4 Komponen Vaksin

Vaksin mengandung beberapa komponen diantaranya komponen aktif yang disebut antigen yang menginduksi respon imun. Vaksin juga mungkin mengandung komponen tambahan seperti adjuvant, pengencer, pengawet, aditif dan sisa komponen lainnya.

1. Komponen aktif

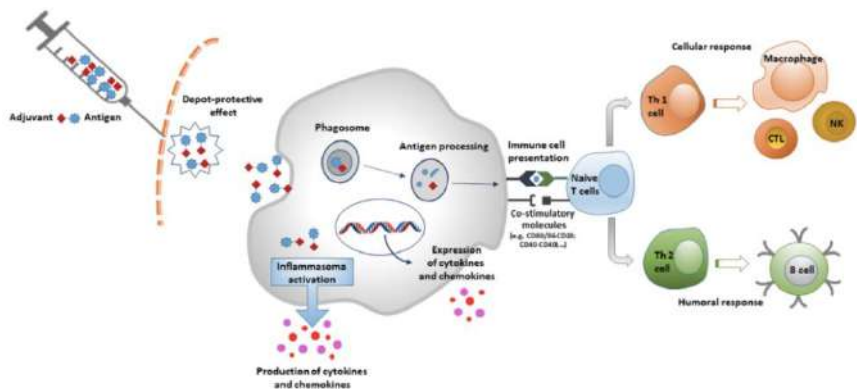
Komponen aktif suatu vaksin dikenal sebagai vaksin antigen. Antigen adalah bentuk virus, bakteri, atau racun penyebab penyakit yang dimodifikasi atau sebagian yang dilindungi oleh vaksin. Antigen vaksin diubah dari bentuk aslinya sehingga tidak lagi menimbulkan penyakit tetapi

dapat menimbulkan respon imun. Ada beberapa cara untuk mencapai hal ini.

2. Adjuvant

Adjuvant didefinisikan sebagai zat yang ditambahkan untuk meningkatkan respon imun (antibodi atau sel T) terhadap suatu antigen (Helbert, 2016). Contohnya adalah garam aluminium seperti aluminium hidroksida, aluminium fosfat dan kalium aluminium sulfat (tawas). Salah satu cara adjuvant dianggap meningkatkan respons imun adalah dengan menjaga antigen di dekat tempat suntikan sehingga dapat dengan mudah diakses oleh sel-sel sistem kekebalan.

Pada adjuvant sistem penghantaran, antigen dikaitkan dengan adjuvant yang bekerja terutama sebagai pembawa antigen. Selain itu, mereka mampu menginduksi respon proinflamasi lokal dengan mengaktifkan sistem imun bawaan, yang mengarah pada rekrutmen sel imun ke tempat suntikan. Secara khusus, kompleks antigen-adjuvant mengaktifkan jalur *pattern recognition receptor* (PRR) dengan bertindak sebagai *pathogen associated molecular patterns* (PAMP). Hal ini menyebabkan aktivasi sel imun bawaan dengan produksi sitokin dan kemokin (Facciola et al., 2022).



Gambar 1.8. Mekanisme Kerja Adjuvant
Sumber (Facciola et al., 2022).

3. Pengencer

Pengencer adalah cairan yang disediakan secara terpisah dan digunakan untuk mengencerkan vaksin hingga konsentrasi yang tepat sebelum pemberian. Biasanya menggunakan air garam steril atau air steril.

4. Stabilisator

Bahan aditif digunakan sebagai penstabil dan membantu menjaga efektivitas vaksin dengan menjaga kestabilan antigen dan komponen vaksin lainnya selama penyimpanan. Stabilisator mencegah komponen vaksin menempel pada sisi botol vaksin. Contoh bahan tambahan yang digunakan adalah laktosa dan sukrosa (keduanya gula), glisin dan monosodium glutamat (keduanya merupakan asam amino atau garam dari asam amino), dan albumin serum manusia atau sapi (keduanya protein). Gelatin, yang merupakan kolagen terhidrolisis sebagian, biasanya berasal dari sapi atau babi, ditambahkan ke beberapa vaksin sebagai penstabil.

5. Pengawet

Bahan pengawet digunakan untuk mencegah kontaminasi jamur atau bakteri pada vaksin, dan terdapat pada beberapa vaksin, namun tidak pada semua vaksin. Bahan pengawet yang sering digunakan antara lain tiomersal, fenoksietanol, dan fenol. Tiomersal adalah senyawa yang mengandung merkuri digunakan untuk mencegah kontaminasi jamur atau bakteri. Phenoxietanol adalah alkohol eter aromatik dan juga digunakan sebagai pengawet di banyak kosmetik, berfungsi sebagai pengawet dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur. Fenol adalah alkohol aromatik yang digunakan sebagai pengawet pada sedikit vaksin. Fenol digunakan dalam jumlah yang sangat kecil sebagai agen pengawet dan stabilisator.

6. Komponen Jejak

Komponen jejak adalah sisa sejumlah kecil zat yang telah digunakan pada tahap awal proses produksi suatu vaksin. Tergantung pada proses pembuatan yang digunakan, hal ini mungkin mencakup sejumlah kecil cairan kultur sel, protein telur, ragi, antibiotik, atau zat penginaktivasi. Biasanya, hanya sedikit jejak zat ini yang terdeteksi pada produk akhir vaksin.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad S, B. T., Kumar R. (2023). A Comprehensive Review on Types of Vaccines: From Classic to Cutting-Edge. *Vaccines & Vaccination*, 8(2).
- Deng, S., Liang, H., Chen, P., Li, Y., Li, Z., Fan, S., Wu, K., Li, X., Chen, W., & Qin, Y. (2022). Viral Vector Vaccine Development and Application During the COVID-19 Pandemic. *Microorganisms*, 10(7), 1450.
- Facciola, A., Visalli, G., Laganà, A., & Di Pietro, A. (2022). An Overview of Vaccine Adjuvants: Current Evidence and Future Perspectives. *Vaccines*, 10(5), 819.
- Goldsby, R. A., Kindt, T. J., Osborne, B. A., & Kubly, J. (2010). *Immunology* (Fifth Edition ed.)
- Gupta, S., & Pellett, S. (2023). Recent Developments in Vaccine Design: From Live Vaccines to Recombinant Toxin Vaccines. *Toxins*, 15(9), 563.
- Hamley, I. W. (2022). Peptides for Vaccine Development. *ACS Applied Bio Materials*, 5(3), 905-944.
- Helbert, M. (2016). *Immunology for medical students*. Elsevier Health Sciences.
- Mak, T. W., Saunders, M. E., & Jett, B. D. (2013). *Primer to the Immune Response*. Newnes.
- Novita, B. D. (2020). Chemoprophylaxis Versus Immunoprophylaxis In Tuberculosis And Leprosy Infection. *Jurnal Widya Medika*, 6(1), 65-71.
- Pollard, A. J., & Bijker, E. M. (2021). A guide to Vaccinology: From Basic Principles to New Developments. *Nature Reviews Immunology*, 21(2), 83-100.
- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2021). *Microbiology: an Introduction* (Thirteenth ed.). Pearson.
- Yao, Y., Zhang, Z., & Yang, Z. (2023). The Combination of Vaccines and Adjuvants to Prevent the Occurrence of High Incidence of Infectious Diseases in Bovine. *Frontiers in Veterinary Science*, 10.

BAB 2

AUTOIMUNITAS

Oleh Lusia Sudarmi

2.1 Pendahuluan

Imunologi merupakan suatu ilmu yang mempelajari tentang proses pertahanan tubuh terhadap senyawa asing baik berupa mikroorganisme seperti virus, bakteri, protozoa atau parasit lain yang masuk ke dalam tubuh. Imunitas juga sering dipahami sebagai suatu reaksi antara antibodi dan antigen. Sistem dalam tubuh kita yang berhubungan dengan imun disebut dengan sistem imun. Sistem imun sendiri dibagi menjadi dua bagian besar yakni sistem imun alamiah/bawaan/non spesifik dan sistem imun didapat/adaptif/spesifik.(Radji. M, 2015, Wiradharma, D, *et.al*, 2017)

Sistem imun sendiri dirancang untuk dapat membedakan antar sel/jaringan tubuh sendiri (*self*) dengan sel atau jaringan asing (*non-self*). Autoimunitas atau difungsi sistem imun terjadi karena sistem imun dalam tubuh yang seharusnya menjadi perlindungan disaat ada sesuatu yang kurang baik masuk ke dalam tubuh malah berbalik melawan diri sendiri. (Olson & Ernest 2013).

Beberapa respon imun seringkali tidak berjalan sesuai dengan apa yang kita harapkan, dimana sistem imun malah merusak atau menyerang diri sendiri, menyerang sel-sel tubuh yang dapat menyebabkan berbagai macam penyakit autoimun. (Radji. M, 2015).

Penyakit autoimun merupakan akibat dari autoimunitas yang menimbulkan respon imun adaptif oleh sel T dan sel B, selain itu ada beberapa faktor yang juga berperan dalam autoimun yakni faktor genetik, jenis kelamin, infeksi dan lingkungan. (Bratawidjaja, K.G & Rengganis, I, 2018)

2.2 Definisi Autoimunitas

Autoimunitas merupakan suatu kondisi yang disebabkan karena terjadinya disfungsi pada sistem imun, dimana sistem imun tidak mampu untuk membedakan dirinya sendiri dengan yang bukan dirinya dan menyebabkan reaksi imun terhadap antigen diri (Olson & Ernest, 2013). Terjadi kegagalan fungsi sistem imun yang membuat badan menyerang jaringannya sendiri, sistem imun kadang rusak dan salah menerjemahkan jaringan tubuh sendiri sebagai antigen asing dan akhirnya menghasilkan autoantibodi dimana jaringan tubuh sendiri menjadi target serangan (Hasdianah, HR, *et.al*, 2014)

Pada reaksi autoimunitas terjadi respon imun baik pada sistem imun seluler maupun respon imun humoral. Respon imun seluler bisa berupa reaksi yang dilakukan oleh limfosit T dan makrofag berupa kerusakan jaringan sedangkan pada respon imun humoral ditemukan adanya pembentukan antibodi yang ditujukan untuk diri sendiri (*self*) atau sering disebut dengan istilah autoantibodi. Respon terhadap antibodi ini melibatkan beberapa komponen seperti antibodi, sistem komplemen, reaksi kompleks imun dan *cell-mediated immunity/CMI* (Radji. M, 2015).

Autoantibodi sendiri dapat dipahami sebagai antibodi yang dihasilkan oleh sistem imun terhadap satu atau lebih protein tubuh sendiri. Autoantibodi akan menyerang diri sendiri sehingga menimbulkan kerusakan. Autoimunitas ini dapat juga muncul secara alamiah, tidak hanya sebagai penyebab penyakit namun bisa juga disebut hasil dari proses suatu penyakit. (Bratawidjaja, K.G & Rengganis, I, 2018)

2.3 Kriteria Autoimunitas

Pada kasus autoimunitas, ada beberapa kriteria yang harus ada untuk memenuhi kriteria sebagai penyakit autoimunitas. Kriteria-kriteria tersebut dapat dilihat pada tabel 2.1 dibawah ini:

Tabel 2.1. Kriteria Autoimunitas

No	Kriteria
1	Pada organ yang ditemukan terkena penyakit ditemukan autoantibodi/Sel T yang bersifat autoreaktif dan spesifik
2	Pada jaringan yang cedera ditemukan autoantibodi/sel T
3	Aktifitas dari penyakit digambarkan melalui ambang autoantibodi /reaksi dari sel T
4	Perbaikan penyakit merupakan tanda dari penurunan respon penyakit
5	Penyakit autoimun pada resipien terjadi karena adanya transfer antibodi atau sel T ke pejamu sekunder
6	Penyakit bisa timbul akibat imunisasi dengan autoatigen yang mengakibatkan terjadinya induksi respon autoimun

Sumber: Bratawidjaja, K.G & Rengganis, I, 2018)

Bukti *Direct* dan *Indirect* Respon Autoimun :

1. Bukti *Direct*

Bukti *direct*/langsung adalah bukti yang ditunjukkan bahwa penyakit ditimbulkan oleh autoantibodi.

- Bukti *direct* dapat dibuktikan pada uji eksperimental pada hewan dimana dilakukan transfer antibodi patogenik/sel T patogenik pada hewan percobaan. Apabila hewan tersebut menunjukkan gejala yang menyerupai penyakit autoimun maka autoantibodi tersebut dianggap patogen.
- Pada penderita autoimun, serum dan imunoglobulinnya mengandung berbagai macam antibodi yang dapat mengikat berbagai macam antigen.
- Pada wanita hamil yang menderita penyakit autoimunitas dan mempunyai autoantibodi maternal, dapat menurunkan penyakit autoimunitas ke fetus/bayi karena, patogenitas autoantibodi dapat menembus ke plasenta. (Bratawidjaja, K.G & Rengganis, I, 2018)

2. Bukti *Indirect*

- a. Pada penyakit autoimunitas yang melalui perantara autoantibodi ditemukan autoantibodi pada daerah lesi
- b. Tanda/ciri dari penyakit autoimunitas yang ditemukan pada hewan percobaan dengan autoantigen yang mendapat perlakuan imunisasi aktif
- c. Informasi genetik, riwayat/keturunan dari keluarga menjadi nilai yang dapat memprediksi terjadinya penyakit autoimun. (Bratawidjaja, K.G & Rengganis, I, 2018)

2.4 Petanda Penyakit Autoimun

Pada penyakit autoimun kadang kita tidak dapat menemukan bukti yang dapat memperkuat diagnosis. Maka ada beberapa petanda atau marker yang dapat digunakan untuk mengetahui penyakit autoimun yaitu:

1. Melihat kembali riwayat penyakit yang dialami dalam keluarga
2. Adanya proses infiltrasi sel mononuklear pada daerah yang sakit
3. Melihat kembali terkait alel MHC kelas II
4. Tingkat kadar Immunoglobulin G autoantibodi yang tinggi
5. Pada jaringan terdapat kompleks antigen-antibodi
6. Pasca pemberian imunosupresan seperti steroid terjadi gejala penyakit yang membaik.
(Bratawidjaja, K.G & Rengganis, I, 2018)

2.5 Faktor Penyebab Autoimunitas/Etiologi

Ada beberapa faktor yang dapat menyebabkan atau berperan dalam autoimun yaitu:

2.5.1 Faktor Genetik

Genetik menjadi faktor yang sangat penting dalam autoimunitas. Gen yang terlibat menjadi faktor utama dalam reaksi autoimun adalah MHC (*Major Histocompatibility Complex*) dan lokus HLA (*Human Leukocyte Antigen*). (Krisnasari, Alvian Silvia, dkk, 2020). Pada tabel 2.2 dibawah ini bisa diketahui hubungan antara penyakit autoimun dengan alel yang berada pada lokus MHC.

Tabel 2.2. Hubungan Penyakit Autoimun dan Alel MHC

Penyakit	Alel MHC	Resiko Relatif
<i>Ankylosing spondylitis</i>	HLA-B27	90
<i>Arthritis reumatoid</i>	HLA-DRB1*01/*04/*10	4-12
<i>Diabetes mellitus</i>	HLA-DRB1*0301/0401	35
<i>Pemphigus vulgaris</i>	HLA-DR4	14

Sumber: Abbas, A.K, *et.al*, 2016

Dalam penelitian terkait keluarga, orang yang mempunyai warisan alel HLA tertentu cenderung bisa terkena penyakit autoimun dengan persentasi lebih besar dibanding dengan orang tidak mempunyai alel tersebut. Sel T diketahui sangat berperan penting dalam kelainan ini, karena sel T berhubungan langsung dengan penyajian antigen peptida oleh molekul MHC kepada sel T. Namun perlu diingat bahwa Alel HLA disini meningkatkan resiko penyakit autoimun bukan menjadi penyebab utama, hal ini karena masih terdapat beberapa pertanyaan seperti bagaimana proses alel yang bermasalah itu bisa keluar, ada apa dengan MHC sehingga saat menyajikan antigen peptida kepada sel T malah menyebabkan defek pada seleksi negatif sel T. Pada beberapa penelitian, ditemukan variasi polimorfisme genetik yang mempengaruhi respon imun dan berperan dalam penyakit autoimun. Polimorfisme yang terdapat pada gen non HLA juga berperan dalam kegagalan toleransi diri atau kelainan aktivasi limfosit. (Abbas, A.K, *et.al*, 2016)

Pada tabel 2.3 dibawah ini dapat dilihat tentang peran gen non MHC pada autoimunitas:

Tabel 2.3. Gen yang berperan pada penyakit autoimun kompleks secara genetis

Gen	Kaitan Penyakit	Mekanisme
PTPN22	RA/ <i>Rheumatoid arthritis</i>	Polimorfisme pada gen PTPN22 menjadi penyebab tidak terkontrolnya aktifitas dari sel B dan Sel T
NOD2	Penyakit Crohn	NOD2 merupakan sensor mikrobial sitoplasmik penyebab penurunan pertahanan penyakit terhadap mikroba usus.
IL23R	IBD (<i>Inflammatory bowel disease</i>) PS (<i>Psoriasis</i>), AS (<i>Ankylosing spondylitis</i>)	Reseptor Interleukin-23, peran perkembangan dan pemeliharaan sel Th17 proinflamasi
CTLA4	T1D (<i>Type 1 Diabetes</i>), RA	CTLA4 adalah reseptor penghambat sel T
CD25 (IL-2R α)	<i>Multiple Sclerosis</i> , Diabetes Tipe 1	Gen CD25 merupakan gen penyandi rantai α reseptor IL-2: berperan dalam keseimbangan sel T regulator.
C2, C4 (komplemen)	SLE	Efek CD pada pembersihan kompleks imun atau pada toleransi sel B
FCGRIIB (FC γ RIIB)	SLE	Defek hambatan umpan balik dari sel B

Sumber: (Abbas, A.K, *et.al*, 2016)

Sedangkan pada tabel 2.4 dapat dilihat mengenai penyakit autoimun tipe mendelian, autoimunitas yang diakibatkan oleh adanya mutasi pada gen. Mutasi pada gen ini bermanfaat untuk bisa menjadi sarana identifikasi molekul dan jalur utama yang berperan

dalam "self tolerance". Penyakit autoimunitas tipe ini jarang dijumpai. (Abbas, A.K, *et.al*, 2016)

Tabel 2.4. Defek Gen penyebab Autoimunitas

Gen	Kaitan Penyakit	Mekanisme
AIRE	APS-1 (<i>Autoimmune Polyendocrine Syndrome</i>)	Adanya penurunan ekspresi antigen jaringan perifer pada timus penyebab defekeliminasi sel T autoreaktif
CTLA4	<i>Autosomal Dominant Immune dysregulation syndrome</i>	Adanya kelainan checkpoint penghambat dan fungsi sel T regulator penyebab homeostatis sel B dan sel T hilang
FOXP3	IPEX (<i>Immune Dysregulation X-linked polyendocrinopathy and enteropathy</i>)	Kekurangan sel T regulator
FAS	ALPS (<i>Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome</i>)	Defek apoptosis pada sel T dan sel B autoreaktif di perifer

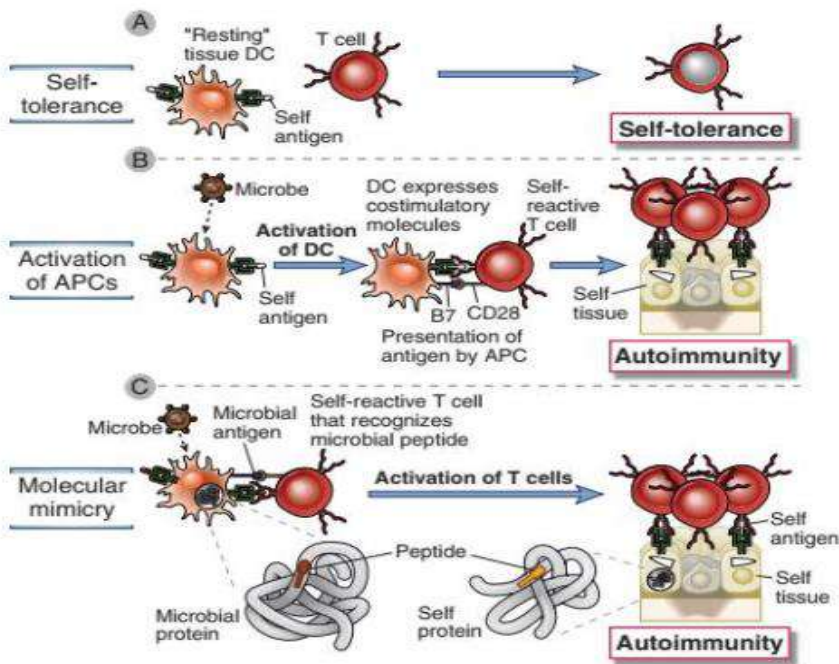
Sumber : Abbas, A.K, *et.al*, 2016

2.5.2 Jenis Kelamin

Menurut jenis kelamin, banyak penyakit autoimun yang terjadi pada jenis kelamin perempuan dibandingkan dengan jenis kelamin laki-laki. (Abbas, A.K, *et.al*, 2016). Hal ini disebabkan pengaruh hormonal, dimana hormon estrogen pada perempuan merangsang respon imun, meningkatkan aktivitas sel T dan meregulasi turun sel T supresor. Selain itu perempuan juga membentuk respon inflamatorik lebih kuat pada berbagai antigen dan lebih besar terhadap autoantigen. (Krisnasari, Alvian Silvia, dkk, 2020)

2.5.3 Infeksi dan Faktor Lingkungan

Infeksi merupakan suatu proses masuknya atau serangan dari mikroba atau parasit masuk ke dalam jaringan tubuh dan menimbulkan respon imun karena invasi tersebut akan mengakibatkan perubahan pada sistem tubuh. (Subowo, 2018)



Gambar 2.1. Mekanisme Mikroba Memacu Autoimunitas (Bratawidjaja, K.G & Rengganis, I, 2018)

Pada gambar 2.1 dapat dilihat bahwa secara normal, interaksi antara sel T dengan autoantigen akan menyebabkan toleransi perifer, pada gambar berikutnya menunjukkan Infeksi yang terjadi pada jaringan akan meningkatkan produksi kostimulator dan sitokin oleh APC. Hal ini berakibat pada aktivasi limfosit autoreaktif dan rusaknya toleransi sel T (tidak toleran).

Mikroba atau parasit yang masuk dalam tubuh memproduksi antigen peptida yang serupa dan bereaksi silang dengan autoantigen. Reaksi antara antigen dan autoantigen disebut

dengan mimikri molekular. Respon imun pada invasi mikroba akan langsung tertuju ke sel dan jaringan diri. (Abbas, A.K, *et.al*, 2016)

2.6 Mekanisme Reaksi Autoimunitas

Mekanisme reaksi autoimunitas dibagi menjadi menjadi 4 tipe reaksi yakni:

2.6.1 Reaksi Autoimunitas Tipe 1

Reaksi autoimunitas tipe 1 merupakan reaksi autoimunitas yang melibatkan antibodi dalam menyerang jaringan tubuh. Saat ada senyawa asing seperti virus masuk ke dalam tubuh, tubuh akan membentuk sekuen asam amino dari virus tersebut, namun sekuen asam amino itu mirip dengan sekuen protein dari jaringan tubuh, maka efek yang dapat terjadi adalah antibodi yang dari tujuan semula dibuat sebagai respon tubuh terhadap antigen malah berbalik merusak jaringan tubuh sendiri. Contoh penyakit yang disebabkan reaksi autoimunitas tipe 1 adalah penyakit hepatitis C yang disebabkan virus hepatitis C. (Radji, M, 2015)

2.6.2 Reaksi Autoimunitas Tipe 2 (Sitotoksik)

Penyakit yang terjadi karena reaksi autoimunitas tipe 2 adalah *Grave's Disease* dan *Myasthenia gravis*. Penyakit *Grave's Disease* merupakan penyakit yang terjadi karena produksi antibodi yang merangsang kelenjar tiroid. Mekanisme yang terjadi adalah adanya reaksi *long acting thyroid stimulator* yang bereaksi dengan reseptor *thyroid stimulating hormone* pada permukaan kelenjar tiroid. Hal ini mengakibatkan kelebihan produksi hormon tiroid dan pembesaran pada kelenjar tiroid

Penyakit *Myasthenia gravis* adalah penyakit autoimun yang terjadi karena antibodi yang menutup reseptor asetilkolin pada hubungan neuromuskuler. Reaksi ini menyebabkan kelemahan otot secara progresif. (Radji, M, 2015)

2.6.3 Reaksi Autoimunitas Tipe 3 (Kompleks Imun)

Penyakit yang terjadi karena reaksi autoimunitas tipe 3 adalah *Systemic lupus erimatosus* (SLE) dan *rheumatoid arthritis*.

Penyakit SLE terjadi pada berbagai organ dan jaringan tubuh terutama sering menyerang jenis kelamin perempuan. Ada antibodi

spesifik (termasuk DNA) terhadap komponen tubuhnya yang kemungkinan dilepas saat terjadi proses penghancuran sel atau jaringan secara normal pada jaringan kulit. Selain itu ditemukan juga gangguan pada sistem regulasi sel T dan fungsi sel B yang diinduksi oleh berbagai faktor. Gejala umum yang dapat dijumpai adalah terdapat alergi terhadap antigen yang diduga karena adanya anti limfosit T penyebab limfopenia dan rentan terhadap infeksi oportunistik. Sel B yang hiperaktif akan aktif memproduksi imunoglobulin hingga berlebih pada darah tepi yang mengakibatkan terjadi defisiensi sel T-penekan (Sel Ts). Keadaan ini memacu pembentukan antibodi anti-DNA tidak terkendali, bereaksi dengan *self* antigen. Gabungan kompleks self antigen dan autoantibodi mengaktifasi sistem komplemen dan respon imun sel-sel efektor lain dan merusak jaringan. Contoh kerusakan pada jaringan glomerulus, pembuluh darah dan lain sebagainya.

Penyakit artritis rematoid terjadi karena adanya reaksi kompleks imun antara IgM, IgG dan komplemen pada bagian persendian tubuh. Reaksi yang terjadi adalah pada sinovia sendi, terjadi timbunan reaksi kompleks antara faktor reumatoid dengan bagian Fc-IgG yang akan mengaktifkan sistem komplemen, melepas mediator kemotaksis terhadap granulosit. Pembengkakan sendi terjadi akibat respon inflamasi dan permeabilitas vaskuler yang meningkat. Kondisi akan menjadi sakit bila ada eksudat yang volumenya bertambah. Terjadi destruksi permukaan sendi karena adanya senyawa enzimatis yang dilepas oleh neutrofil yang memecah kolagen dan tulang rawan sendi. Inflamasi yang berulang dapat menyebabkan penimbunan fibrin dan tulang rawan yang diganti menjadi jaringan ikat sehingga sendi sulit digerakkan. (Radji, M, 2015)

2.6.4 Reaksi Autoimunitas Tipe 4 (*Cell-Mediated Autoimmune*)

Penyakit yang merupakan akibat dari reaksi autoimunitas tipe 4 adalah penyakit *multiple sclerosis*, *Hashimoto's thyroiditis* dan *Diabetes melitus* yang tergantung pada insulin.

Pada penyakit *multiple sclerosis* , reaksi autoimunitas sel T dan makrofag merusak sel-sel syaraf.

Pada penyakit *Hashimoto's thyroiditis*, terjadi reaksi imun akibat respon imun seluler yaitu destruksi kelenjar tiroid oleh sel T. Terjadi peningkatan aktifitas sel T sitotoksik dan produksi limfokin oleh limfosit T. Selain itu sitotoksitas terjadi dengan bantuan ADCC (*Antibody Dependent Cell Mediated Cytotoxicity*). Pada sel folikular melekat kompleks autoantigen-autoantibodi yang akan merangsang sel K yang merusak kelenjar tiroid.

Pada penyakit *Diabetes melitus* yang tergantung pada insulin (*insulin dependent diabetes mellitus*) respon imun seluler merusak sel-sel pankreas yang berfungsi mensekresi insulin. Kerusakan dari sel pankreas ini menyebabkan penyakit DM. (Radji, M, 2015)

Mekanisme autoimunitas juga dengan kata lain dapat terjadi melalui beberapa mekanisme yaitu:

1. Delesi Klonal
Delesi klonal merupakan eliminasi klon limfosit T serta sebagian kecil limfosit B. (Hasdianah, HR., *et.al*, 2014)
2. Anergi Klon
Anergi klon merupakan keadaan dimana klon limfosit tidak mampu menampilkan fungsinya yaitu sebagai supresi klon mengendalikan fungsi pembantu *T-helper* limfosit T. (Hasdianah, HR., *et.al*, 2014). Fungsi dari Sel T *helper* (sel Th) sendiri adalah berfungsi dalam proses imunitas humoral dan untuk menolong sel B dalam produksi antibodi. Proses interaksi antara sel Th dengan sel B yang mengandung fragmen antigen akan saling mengikat dengan reseptor MHC II. Hal ini menjadi tanda atau aba-aba ke antibodi untuk bekerja sesuai dengan fungsinya. (Ermawan, B, 2019)

2.7 Jenis Penyakit / Spektrum Penyakit Autoimun

Pada tabel dibawah dapat dilihat beberapa jenis penyakit autoimun:

Tabel 2.5. Spektrum Penyakit Autoimunitas

Jenis Penyakit	Organ	Antibodi Terhadap
<i>Tiroiditis Hashimoto's</i>	Tiroid	Tiroglobulin, tiroid peroksidase
<i>Miksedema primer</i>	Tiroid	Reseptor TSH sitoplasmik

Jenis Penyakit	Organ	Antibodi Terhadap
<i>Anemia Pernisiosa</i>	Sel Darah Merah	Faktor Intrinsik, Sel Parietal Lambung
Penyakit Addison	Adrenal	Sel-sel adrenal
Menopause Dini	Rahim	Sel yang Memproduksi Steroid
Infertilitas Pria	Sperma	Spermatozoa
Diabetes tergantung pada insulin	Pankreas	Sel Beta Pankreas
Diabetes resistensi insulin	Sistemik	Reseptor Insulin
Alergi atopik	Sistemik	Reseptor beta-adrenergik
<i>Myasthenia gravis</i>	Otot	Otot, reseptor asetilkolin
<i>Sindrom Goodpastures</i>	Ginjal, Paru	Membran Dasar ginjal dan paru
<i>Pemfigus</i>	Kulit	Desmosome
<i>Pemfigoid</i>	Kulit	Membran dasar kulit
<i>Uveitis Fokogenik</i>	Lensa Mata	Protein lensa mata
Anemia Hemolitik	Platelet, Sel Darah Merah	Sel Darah merah
<i>Sirosis Bilier Primer</i>	Liver	Mitokondria
<i>Neutropenia Idiopatik</i>	Neutrofil	Neutrofil
<i>Kolitis Ulseratif</i>	Kolon	Lipopolisakarida Kolon
<i>Sindrom Sjogren</i>	Kelenjar Sekretorik	Mitokondria
<i>Vitiligo</i>	Kulit	Melanosit
<i>Reumatoid Arthritis</i>	Kulit, Ginjal, Sendi	IgG
<i>Lupus Eritematosus</i>	Sendi	DNA, RNA, Nukleoprotein

Sumber: Radzy, M, 2015

Penyakit autoimun dibagi menjadi 2 kelompok utama yakni spesifik organ dan sistemik (non-organ spesifik):

2.7.1 Penyakit Autoimun Spesifik Organ

Penyakit autoimun spesifik organ hanya mengenai organ tubuh tertentu saja. (Krisnasari, Alfian Silvia, dkk, 2020). Contoh penyakit yang sering ditemui adalah penyakit autoimun endokrin. Penyakit ini diawali oleh proses inflamasi pada kelenjar endokrin. Sel yang terkena inflamasi memproduksi interferon dan sitokin untuk menginduksi ekspresi MHC kelas II pada permukaan endokrin. Kesalahan dalam pengenalan kompleks MHC antigen oleh sistem imun secara tidak tepat mengakibatkan hasil autoantigen (zat asing). Sel endokrin mempunyai fungsi sebagai APC untuk protein sel nya sendiri, maka pertemuan dengan sel T dan sel B autoreaktif mengakibatkan destruksi sel-sel endokrin secara enzimatis dan oksidatif.

Dari berbagai jenis jenis penyakit autoimun spesifik organ, yang paling sering ditemui adalah:

1. *Tiroiditis Hashimoto*

Pada penyakit ini, Respon imun seluler berperan dalam menimbulkan keadaan patologik. Terjadi peningkatan aktifitas dari sel T sitotoksik serta peningkatan produksi limfokin oleh limfosit T. Ada kemungkinan bahwa autoantibodi terbentuk oleh adanya kerusakan sel akibat respon imun seluler. Sitoksisitas terjadi karena bantuan ADCC, dimana antibodi atau kompleks autoantigen-autoantibodi melekat pada sel folikular hingga kemudian sel itu di rusak oleh *NK cell*. Patogenesis terkait apoptosis berperan penting. Proses apoptosis akan menyebabkan destruksi pada sel-sel kelenjar tiroid. Pada penyakit ini ditemukan berbagai jenis autoantibodi yaitu: *anti-tiroglobulin*, *anti-mikosom*, *anti-triiodotironine/anti tiroksin*, *antibodi terhadap peroksidase (TPO/thyroid peroxidase)* dan *anti DNA*. Pada penyakit ini ditemukan juga infiltrasi limfosit, makrofag dan sel plasma dalam kelenjar, kadang hampir diseluruh struktur jaringan kelenjar. (Kresno, S.B, 2013)

2. *Tirotoksikosis grave's*

Penyakit ini merupakan penyakit yang timbul akibat dari produksi antibodi yang merangsang tiroid. Terdapat antibodi pada reseptor permukaan sel tiroid yang merangsang kelenjar tiroid, salah satunya adalah *Long Acting Thyroid Stimulator* (LATS) / *Thyroid Stimulating Antibody* (TSAb). Jenis dari TSAb ini akan bereaksi dengan reseptor TSH pada permukaan kelenjar tiroid. (Kresno, S.B, 2013)

3. *Diabetes mellitus Tipe 1*

Penyakit Diabetes mellitus tipe 1 disebut juga penyakit metabolik multisystem, masuk dalam kelompok sindrom poliendokrin autoimun (*autoimmune polyendocrine syndrome*). Pada penyakit ini ditemukan kelainan pada gen AIRE dan Foxp3 serta kelainan pada jenis gen MHC seperti DR3/4-DQ2/DQ8.

Penyakit ini disebabkan oleh adanya destruksi sel-sel β pankreas (tempat produksi insulin) oleh proses autoimun spesifik sel B. Unsur-unsur yang terlibat dalam proses destruksi antara lain: autoantigen sel β pankreas, makrofag, sel dendritik, limfosit B dan limfosit T. Prosesnya adalah sebagai berikut: Terjadi pelepasan autoantigen sel β oleh sel β melalui proses kerusakan sel (*cell turnover*) kemudian autoantigen diproses dan dipresentasikan ke sel T oleh APC dan terjadi infiltrasi kelenjar pankreas yang dilakukan pertama oleh makrofag dan sel dendritik. Kerusakan jaringan ini termasuk juga dalam hipersensitifitas tipe lambat (DTH) dimediasi oleh sel CD4⁺ Th1 yang mana sel ini reaktif terhadap autoantigen sel β pankreas.

Selain sebab di atas, kerusakan jaringan pada pankreas juga dapat disebabkan oleh CTL yang melepaskan perforin dan granzyme untuk melisiskan sel atau Makrofag teraktivasi yang memproduksi sitokin pro-inflamasi seperti TNF dan IL 1 serta ROS.

Destruksi dari sel b pankreas termasuk respon primer kemudian diikuti oleh respon sekunder yaitu adanya produksi autoantibodi anti-insulin. Kerusakan pada sel b pankreas terjadi melalui proses yang lama. (Kresno, S.B, 2013)

2.7.2 Penyakit Autoimun Non Organ Spesifik

Penyakit autoimun non organ spesifik dapat menyerang beberapa organ. Golongan dari penyakit autoimun non spesifik organ yang palng sering dijumpai adalah:

1. SLE

Penyakit SLE ini terjadi pada berbagai organ dan jaringan di seluruh tubuh dengan tanda vaskulitis sistemik tanpa penyebab pasti. Faktor genetik memegang peranan penting dalam patofisiologi penyakit ini, hal ini dapat dilihat dari sering dijumpai anti-DNA pada beberapa anggota keluarga penderita SLE. Patogenesis pada SLE adalah adanya kehilangan *self tolerance* yang melibatkan unsur seluler dan humoral (Kresno, S, B, 2013). Pada penyakit ini terjadi autoantibodi melawan antigen nuklear diantaranya adalah RNA, DNA dan protein lain yang berikatan asam nukleat. (Playfair & Chain, 2012)

Beberapa gen terbukti mempunyai hubungan dengan SLE seperti terlihat pada tabel berikut ini:

Tabel 2.6. Lokus Suseptibilitas berkaitan dengan SLE

Lokasi Sitogenetik	Gen Kandidat dengan Lokusnya	Respon Imun
1q23	CRP FCGR2A FCGA2B FCGR3A FCGR3B	Bawaan Bawaan Adaptif Adaptif Adaptif
1q25-31 1q41-42	PARP TLR5	Apoptosis Bawaan

Lokasi Sitogenetik	Gen Kandidat dengan Lokusnya	Respon Imun
2q35-37	PDCD1	Bawaan
4p16-15.2 6p11-21	MHC kelas II: DRB1 MHC kelas III: TNF- α C2, C4	Adaptif Adaptif Bawaan
12q24 16q12-13	OAZ	Adaptif/didapat

Sumber: (Kresno, S.B, 2013)

2. Arthritis Reumatoid

Penyakit ini diawali dengan adanya aktivitas sel T autoreaktif yang bermigrasi ke dalam rongga sinovial dan menginduksi aktivasi sel efektor (sel sinovial dan sel B) melalui sitokin hasil produksi sel T. (Kresno, S.B, 2013). Penyakit ini timbul akibat adanya reaksi autoantibodi terhadap IgG / faktor reumatoid. (Playfair & Chain, 2012)

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pillai, S. (2016). *Imunologi Dasar Abbas: Fungsi dan Kelainan Sistem Imun*, 5 th Indonesian edition, By Handono Kalim. Singapore: Elsevier Singapore Pte.Ltd
- Bratawidjaja, K. G, & Rengganis, I. (2018). *Imunologi Dasar*. Ed. 12 Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Ermawan, B (2019) *Asuhan Keperawatan Pasien Dengan Gangguan Sistem Imunologi*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press
- Hasdianah, HR., Dewi, P., Peristiowati, Y., Imam, S (2014) *Imunologi Diagnosis dan Teknik Biologi Molekuler*. Yogyakarta: Nuha Medika
- Krisnasari, Alfian Silvia (editor). 2018. *Imunoserologi Teknologi Laboratorium Medik*. Jakarta: EGC
- Kresno, S. B (2013). *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Edisi kelima. Jakarta: FKUI
- Olson, Kate Rittenhouse & Ernesto De Nardin. Alih Bahasa : Dian Ramadhani...*et al.* (2016) *Imunologi dan Serologi Klinis Modern: Untuk kedokteran dan analis kesehatan (MLT/CLT)*. Jakarta: EGC
- Playfair, J.H.L. & Chain, B.M (2012). *Immunology at a Glance*. Nint Edition. Jakarta : Erlangga
- Radji, M. (2015) *Imunologi dan Virologi*. Cetakan 2 (edisi revisi). Jakarta: PT. ISFI Penerbitan
- Subowo (2013). *Imunologi Klinik*. Edisi Kedua. Jakarta: Sagung Seto
- Wiradharma, D., Pusparini & Alvina (2017). *Konsep Dasar Imunologi*. Jakarta: CV. Sagung Seto.

BAB 3

DEFISIENSI IMUN

Oleh Agnes Felicia Lubis

3.1 Pendahuluan

Defisiensi imun, juga dikenal sebagai imunodefisiensi, disebabkan oleh penurunan atau kegagalan satu atau lebih elemen sistem kekebalan. Kolonel Ogden Brutton pertama kali dikenalkan pada tahun 1952. Pertama, beliau bertemu dengan seorang anak yang mengalami infeksi bakteri berulang kali tetapi tidak terlihat pembentukan imunoglobulin dalam serumnya. Komponen seluler dan humoral sistem kekebalan tubuh mengalami kerusakan tambahan akibat hal ini..

Imunodefisiensi spesifik dapat menyebabkan kelainan pada limfosit T atau limfosit B yang merupakan komponen sistem imun spesifik, sedangkan imunitas non spesifik mempengaruhi komponen sistem imun terutama sistem fagosit dan komplemen. Mengidentifikasi komponen sistem kekebalan mana yang terganggu mungkin sulit dilakukan karena kelainan pada sistem komplemen, sistem fagosit, limfosit T dan B, serta sel lain semuanya dapat menunjukkan gejala klinis yang sama. Dengan mempertimbangkan jenis mikroorganisme penyebab infeksi serta memperhatikan hasil pemeriksaan fisik dan anamnesis, maka cakupan rencana kerja untuk menentukan diagnosis.

Mekanisme pertahanan tubuh terhadap infeksi kuman piogenik adalah interaksi antara komplemen, antibodi, dan fagosit; oleh karena itu, gangguan pada salah satu dari tiga komponen yang disebutkan di atas akan membuka peluang terjadinya infeksi berikutnya dengan jenis kuman ini. (Darwin, Elvira and Elfi, 2021).

3.2 Jenis Imunodefisiensi

Defisiensi imun diklasifikasikan menjadi dua kelompok. Imunodefisiensi primer atau kongenital adalah tipe pertama, dan imunodefisiensi sekunder atau kongenital adalah tipe kedua.

Suatu kondisi genetik yang dikenal sebagai imunodefisiensi primer atau bawaan menyebabkan peningkatan infeksi, yang biasanya terjadi pada balita atau anak kecil. Malnutrisi, kanker yang menyebar, pengobatan immunosupresif, terapi radiasi, dan infeksi sel sistem kekebalan tubuh seperti infeksi virus *human immunodeficiency virus* (HIV) berkontribusi terhadap defisiensi imun sekunder.

Defisiensi imun secara umum didefinisikan sebagai berikut:

1. Sensitivitas terhadap infeksi meningkat. Komponen sistem kekebalan tubuh yang terganggu menentukan jenis infeksi yang diderita seseorang. Misalnya, defisiensi pada sistem imun humoral membuat seseorang lebih rentan terhadap infeksi mikroba piogenik, sedangkan defisiensi pada sistem imun seluler membuat seseorang lebih rentan terhadap infeksi virus dan mikroba antar sel. Kerentanan seseorang terhadap infeksi oleh semua jenis mikroorganisme berasal dari kombinasi defisiensi imunitas humoral dan seluler.
2. Pasien dengan gangguan kekebalan tubuh lebih rentan terhadap kanker, terutama kanker yang disebabkan oleh virus. Imunodefisiensi sel T adalah salah satu buktinya. Elemen utama pengawasan kekebalan terhadap kanker adalah sel T. Selain itu, peningkatan kejadian penyakit autoimun dengan mekanisme yang tidak jelas terkait dengan defisiensi imun spesifik.
3. Berbagai kelainan sistem imun, misalnya akibat malnutrisi atau penurunan aktivitas limfosit, serta kelainan pada mekanisme efektor imunitas bawaan dan imunitas didapat, dapat menyebabkan defisiensi imun, menjadikannya penyakit yang sangat heterogen dengan gambaran klinis berbeda untuk setiap kelainan.
4. Penyakit autoimun lebih sering terjadi pada orang dengan imunodefisiensi spesifik. Hal ini disebabkan kurangnya sel T regulator (TReg), yang biasanya membantu menjaga “toleransi diri”, meskipun mekanisme pastinya masih belum diketahui.

3.3 Immunodefisiensi Primer

Defisiensi imun primer disebabkan oleh kerusakan pada sistem imun bawaan dan didapat, khususnya pada maturasi dan aktivasi limfosit. Meskipun kelainan pada perkembangan limfosit biasanya disebabkan oleh mutasi pada gen yang mengkode berbagai molekul, termasuk faktor transkripsi dan enzim yang diperlukan untuk perkembangan limfosit, kelainan yang melibatkan sistem kekebalan bawaan biasanya disebabkan oleh kelainan pada fagosit atau komplemen. Defisit dalam perkembangan dan fungsi sel B menyebabkan penurunan produksi antibodi dan peningkatan kerentanan terhadap mikroorganisme ekstraseluler, khususnya enkapsulasi bakteri. Kurangnya respon imun seluler dan peningkatan kerentanan terhadap mikroba intraseluler adalah akibat dari kelainan dalam perkembangan sel T. Defisit sel Th juga dapat menyebabkan penurunan produksi antibodi.

3.3.1 Defek Sistem Imun Bawaan

Mekanisme pertahanan awal terhadap infeksi adalah sistem kekebalan tubuh bawaan. Fagosit dan komplemen adalah dua komponen sistem imun bawaan utama yang terlibat dalam fase efektor dari respon imun didapat. Oleh karena itu, infeksi berulang dengan tingkat keparahan yang bervariasi disebabkan oleh kelainan bawaan pada komplemen dan fagosit.

1. Kelainan atau disfungsi fagosit

Fagosit adalah sel polimorfonuklear (PMN), dan makrofag, monosit adalah populasi sel penting yang melindungi tubuh dari bakteri piogenik dan mikroorganisme intraseluler. Defisiensi adhesi leukosit tipe I, misalnya, disebabkan oleh hilangnya molekul adhesi pada sel neutrofil dan mengakibatkan leukositosis (peningkatan kadar leukosit di atas nilai normal) di tempat infeksi. Hampir semua kerusakan besar pada fagosit disebabkan oleh mutasi pada komponen sistem imun bawaan. Penyebab utama kelainan fagositosis adalah mutasi pada gen molekul adhesi, defek transduksi sinyal yang melibatkan reseptor berbeda seperti TLR, dan defek pada faktor transkripsi NFκB.

Meskipun disfungsi genetik fagosit dapat menyebabkan berbagai kerusakan, dua di antaranya yang paling signifikan adalah penyakit granulomatosa kronis (CGD), yang ditandai dengan ketidakmampuan fagosit untuk menghilangkan infeksi intraseluler, dan defisiensi adhesi leukosit (LAD-1 DAN LAD- 2), yang berhubungan dengan kelainan fungsi adhesi leukosit..

Infeksi bakteri berulang baik lokal maupun sistemik, terutama yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*, *Sterptococcus hemolyticus*, atau kandida dan virus jarang menjadi penyebab infeksi ini. Hal ini merupakan manifestasi klinis umum dari disfungsi fagosit. Infeksi berat sering kali muncul pada pasien tanpa disertai peningkatan suhu tubuh atau jumlah leukosit. (Mansyur, 2020).

2. Defek sistem komplemen

Komplemen diperlukan untuk proses opsonisasi, lisis bakteri, dan kemotaksis neutrofil, itulah sebabnya defisiensi dan gangguan fungsi komplemen sering dikaitkan dengan peningkatan kerentanan terhadap infeksi. Selain itu, komponen tersebut berperan penting dalam proses fagositosis. Beberapa kelainan komplemen berhubungan dengan penyakit lain selain sensitivitas terhadap infeksi. Misalnya, kecenderungan untuk mengembangkan penyakit kompleks imun dan defisiensi autoimun diwariskan sebagai sifat resesif autosomal, dengan pengecualian defisiensi properdin, yang diturunkan secara terkait-X, dan defisiensi inhibitor-C1, yang diturunkan secara autosomal. sifat dominan. Gejala klinis yang berbeda menunjukkan defisiensi sistem komplemen seperti contoh defisiensi inhibitor C1-esterase..

Aktivasi C1, C2, dan C4 yang tidak terkontrol dapat disebabkan oleh defisiensi inhibitor ini. Hal ini disebabkan oleh pelepasan kina vasoaktif C2 yang berlebihan, yang meningkatkan permeabilitas dinding kapiler dan menyebabkan edema non-inflamasi lokal yang berulang. Kondisi ini sering dikaitkan dengan sindrom edema angioneurotik hereditas (HAE). Ada dua bentuk (HAE): tipe I melibatkan mutasi titik pada gen penghambat C1 yang mencegah transkripsi, sedangkan tipe II

melibatkan mutasi titik pada gen penghambat C1 yang menghasilkan pembentukan C1 yang rusak.

Ketidakmampuan C1r, C4, dan C2 mengakibatkan aktivasi C3-convertase gagal. Pasien SLE mempunyai kelainan ini (systemic lupus erythematosus). Meskipun hubungan pasti antara defisiensi dan SLE tidak diketahui, hal ini diyakini disebabkan oleh ketidakmampuan pasien untuk menghilangkan kompleks antigen-antibodi yang ada di dalam tubuh secara efisien. Pasien dengan defisiensi C3, C5, C6, C7, C8, dan C9 sering diidentifikasi; namun, orang-orang ini tampak sehat secara keseluruhan, dengan pengecualian peningkatan kerentanan terhadap infeksi *Neisseria meningitidis* dan *Neisseria gonorrhoea*. Selain menyebabkan terganggunya pelepasan faktor kemotaksis, defisiensi C3 atau C5 juga menyebabkan terganggunya opsonisasi mikroorganisme sehingga mengganggu proses fagositosis.

3.3.2 Defek Sistem Imun Didapat

Imunodefisiensi primer pada dasarnya merupakan kelainan resesif autosomal yang mengakibatkan kelainan gen tunggal yang memengaruhi sistem imun didapat. Salah satunya adalah resesif terkait-X. Penyakit imunodefisiensi primer dikategorikan berdasarkan ciri klinis, gambaran, dan perubahan status kekebalan. Namun seperti telah disebutkan, perkembangan genetika molekuler telah memungkinkan untuk mengklasifikasikan penyakit-penyakit ini berdasarkan jenis molekul yang menyimpang.

1. Defisiensi limfosit B

Pasien defisiensi imunoglobulin biasanya mengalami infeksi berulang dengan kuman patogen yang berkapsul, sedangkan pasien defisiensi limfosit T sangat rentan terhadap infeksi virus, jamur, dan kuman dengan patogenisitas rendah atau infeksi oportunistik. Sindrom Goerge, Wiskott, dan Aldirch serta kandidiasis mukokutaneus persisten.

Sindrom Di George didefinisikan dengan tidak adanya kelenjar timus (aplasia) atau pembentukan timus yang tidak lengkap (hipoplasia) selama embriogenesis. Akibatnya, limfosit T tidak dapat berkembang dari embrio limfosit. Namun jaringan

limfoid tidak berhenti terbentuk meski ada sedikit gangguan dalam perkembangannya. Limfosit T sangat jarang ditemukan dalam darah dan fungsinya terganggu. Karena terganggunya respon imun seluler, pasien mampu melawan infeksi mikroba piogenik namun tidak mampu melawan infeksi virus atau vaksinasi BCG. Serum pasien masih mengandung imunoglobulin, meskipun seringkali dalam kadar yang lebih rendah. Hal ini menunjukkan bahwa sel T masih dibutuhkan untuk produksi imunoglobulin..

Sindrom Wiskot-Aldrich ditandai dengan kelainan ekspresi antigen makrofag. Laki-laki terkena penyakit imunodefisiensi terkait-X ini. Eksim, infeksi piogenik, infeksi oportunistik, dan trombositopenia merupakan bagian dari keseluruhan sindrom. Tingkat IgM biasanya sangat, sangat rendah, sementara tingkat IgA dan IgE meningkat dan tingkat IgG normal. Kadang-kadang antibodi limfositotoksik spesifik sel T terdeteksi dalam serum pasien. Mereka yang terkena dampak mengalami gangguan pada fungsi sel T, yang semakin memburuk seiring berjalannya waktu. Gangguan dalam sintesis faktor penghambat migrasi (MIF) dan kemungkinan limfokin lainnya sering diamati pada kandidiasis mukokutan kronis..

Tabel 3.1. Penyakit yang disebabkan karena defisiensi dari komponen sistem imun

Defisiensi	Penyakit	Respon imun		Infeksi	Pengobatan
		Humoral	Seluler		
Komplemen	Defisiensi C3	Normal	Normal	Bakteriogenik	Antibiotik
Sel Mieloid	Granulomatosis kronik	Normal	Normal	Bakteri, Matalase, Jamur	Antibiotik
Sel B	Agammaglobulinemia Inf. Bruton	✓	Normal	Bakteri, Piogenik, Pneumocystis Carinii	Gama Globulin
Sel T	Hipoplasia timus Di-George	✓	✓	Virus, candida	Transplantasi timus
Stem sel	SCID	✓	✓	Semua mikroorganisme	Transplantasi sum-sum tulang

Sumber : (Darwin, Elvira and Elfi, 2021)

2. Defisiensi limfosit T

Pasien dengan defisiensi limfosit T sangat rentan terhadap infeksi oportunistik serta infeksi virus, jamur, dan bakteri dengan patogenisitas rendah. Gangguan defisiensi limfosit T termasuk sindrom Di George, sindrom Wiskot-Aldrich, dan kandidiasis mukokutan kronis.

Sindrom Di George adalah penyakit yang ditandai dengan pembentukan timus yang tidak lengkap atau tidak ada (hipoplasia) selama embriogenesis. Hal ini mengakibatkan terganggunya pembentukan jaringan limfoid dan perkembangan limfosit T. Akibatnya, mereka yang terkena dampak tidak dapat pulih dari infeksi virus dan bahkan tidak memenuhi syarat untuk mendapatkan vaksinasi.

Defisiensi imun pada sel dan sistem humoral diakibatkan oleh kegagalan sel B dan sel T untuk berkembang menjadi sel imunokompeten. Pasien lain mungkin mengalami defisiensi enzim adenosin deaminase pada sel B dan T mereka. Jenis yang kurang umum namun lebih mematikan adalah defisiensi sel

induk berpotensi majemuk. Baik limfosit maupun embrio sel myeloid tidak berkembang dalam kondisi ini. Kondisi ini disebut sebagai disgenesis retikuler. retikular (Darwin, Elvira and Elfi, 2021).

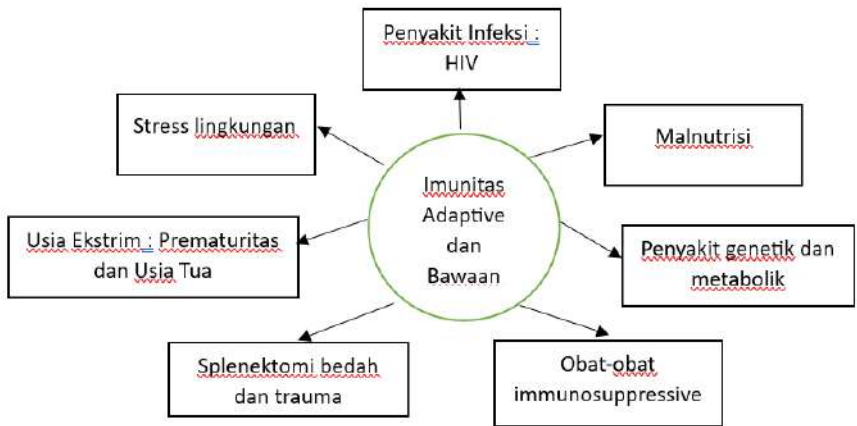
3. Defisiensi MHC kelas II

Kurangnya ekspresi MHC kelas II pada permukaan sel APC, termasuk sel B dan makrofag, diturunkan secara resesif autosomal dan tidak berhubungan dengan lokus histokompatibilitas yang terletak di lengan pendek kromosom 6. Anak-anak dengan penyakit ini sering mengalaminya. infeksi berulang, terutama pada sistem gastrointestinal. Defisiensi MHC kelas II menunjukkan defisiensi sel T CD4+, yang juga menyebabkan defisiensi antibodi, karena perkembangan sel T CD4⁺ bergantung pada seleksi positif oleh MHC kelas II di timus. (Darwin, Elvira and Elfi, 2021).

3.4 Imunodefisiensi Sekunder

Imunodefisiensi sekunder terjadi dan dapat disebabkan oleh sejumlah faktor etiologi, termasuk obat imunosupresif dan sitotoksik, infeksi virus yang bersifat toksik terhadap sel limfosit, misalnya yang menyebabkan AIDS, defisiensi yang disebabkan oleh sinar-X, dan malnutrisi. Keganasan, seperti pada kasus penyakit Hodgkin, leukemia limfositik kronis, mieloma, dan penyakit Waldenstrom, atau masalah terkait respons imun, seperti pada lepromatosis atau malaria, mungkin merupakan penyebab defisiensi imun sekunder. Penyebab pasti dari imunodefisiensi sekunder masih belum diketahui. (Kresno, 2010).

Infeksi yang sesuai dapat menjadi lebih rentan terhadap defisiensi imun sekunder. Defisiensi sekunder dapat disebabkan oleh berbagai faktor lingkungan, termasuk infeksi HIV, kelaparan, kemoterapi, dan kondisi lainnya. (Saraswati, 2021).



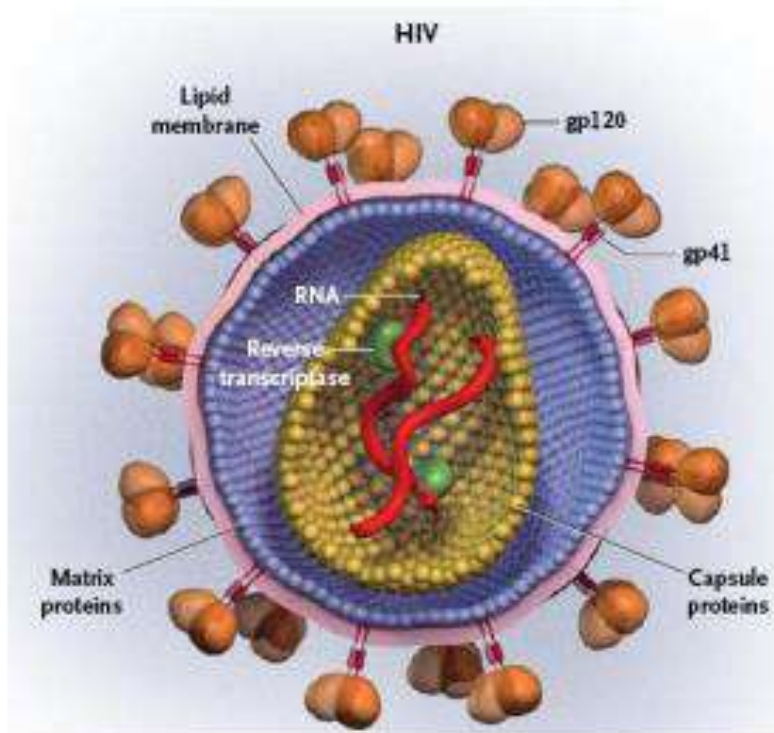
Gambar 3.1. Immunodefisiensi sekunder disebabkan oleh faktor-faktor eksternal (Saraswati, 2021)

3.4.1 *Acquired immune deficiency syndrome (AIDS)*

Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) merupakan penyakit yang ditemukan pada awal tahun 1980an. Hal ini ditandai dengan imunosupresi dan memiliki berbagai manifestasi klinis, termasuk infeksi oportunistik, kanker, dan degenerasi sistem saraf pusat. Infeksi *human immunodeficiency virus (HIV)* menyerang sel T CD4+.

HIV diklasifikasikan menjadi dua jenis: HIV-1 dan HIV-2. Virus-virus ini berbeda dalam antigenisitas dan strukturnya, dan hanya sekitar 40% rangkaian asam aminonya yang bersifat monolog. Gejala klinis kedua jenis HIV ini bisa jadi identik. lebih dari 42 juta orang HIV-positif, 30% di antaranya tinggal di Asia dan 70% di antaranya berada di Afrika.

Meskipun tingkat penularan HIV heteroseksual meningkat di Afrika, hubungan homoseksual adalah cara utama penularan HIV di belahan dunia lain. Selain itu, HIV dapat ditularkan dari ibu yang HIV positif ke janinnya melalui penularan fetomaternal, transfusi darah, dan kecanduan obat-obatan terlarang. (Abbas AK, Lichtman AH, 2006).



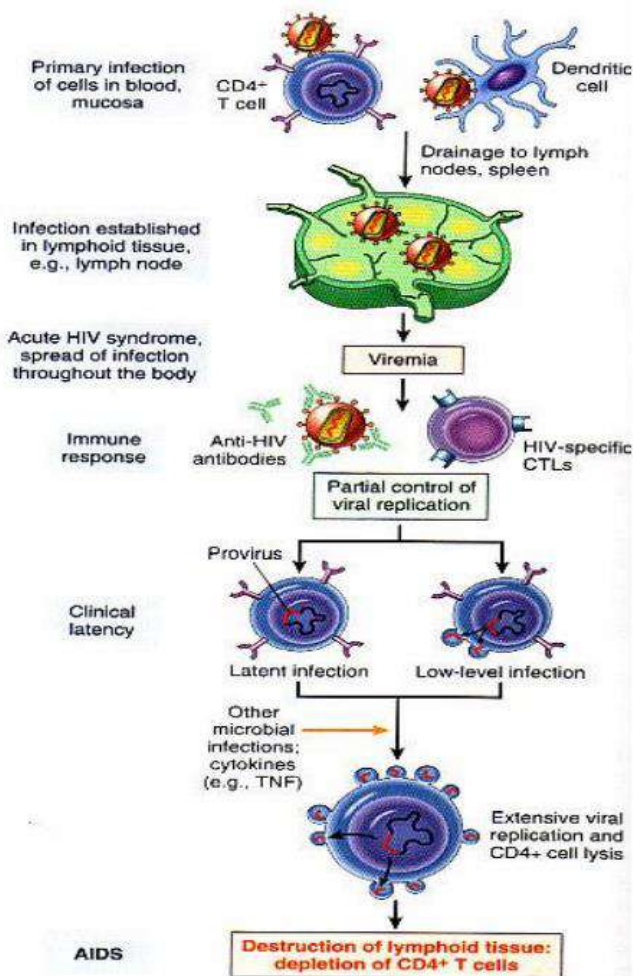
Gambar 3.2. Virion HIV (Johnston, 2008)

3.4.2 Mekanisme imunodefisiensi pada infeksi HIV

Infeksi HIV menyebabkan disfungsi sistem kekebalan bawaan dan didapat. Satu dari setiap 100 sel T CD4 pembawa virus mungkin terinfeksi primer. Virus dapat menyebabkan penurunan respon imun bahkan mampu melewati pertahanan sistem imun sehingga memungkinkan virus menyebar dan menginfeksi sel T. (Kresno, 2010). Ada beberapa faktor yang menyebabkan kegagalan sistem imun dalam mengatasi infeksi HIV antara lain.

1. Selama replikasi virus HIV, ekspresi gp41 di membran plasma dan partikel tunas virus meningkatkan permeabilitas dan masuknya membran plasma. Peningkatan konsentrasi kalsium akan mengakibatkan lisis osmotik atau apoptosis karena masuknya udara. Gangguan virus pada sintesis dan ekspresi protein di dalam sel dapat menyebabkan kematian sel.

2. Sel-sel yang bersifat toksik sebagian besar ditemukan pada RNA virus dan DNA virus yang ditemukan bebas di sitoplasma.
3. Interaksi gp120-CD4, membran plasma sel T yang terinfeksi HIV akan menyatu dengan sel T CD4+ yang tidak terinfeksi untuk membentuk sel raksasa berinti banyak, atau *syncytia*. Sel T yang bergabung mati akibat proses ini. Penelitian in vitro mengenai fenomena ini telah dilakukan secara ekstensif, dan pasien AIDS hampir tidak pernah mengalami *syncytia* (Pagaya, 2014).
4. Disfungsi sistem imun pada infeksi HIV antara lain disebabkan karena exhaustion sel T, baik sel T CD4+ maupun sel T CD8+. Pada infeksi kronik sel T memori secara terus menerus dirangsang oleh antigen dan memperbaharui diri sendiri, melakukan ekspansi klonal, mensekresi sitokin, meningkatkan sitolitik, dan kemudian mengalami apoptosis. Proses ini dapat menyebabkan sel-sel mengalami kelelahan (El-far M, Halwani R, Said E, Trautmann L, Doroudchi M, 2008).



Gambar 3.3. Infeksi HIV (Kumar VK, Abbas AK, 2005)

3.5 Pemeriksaan Laboratorium

Infeksi yang terus datang kembali atau menetap dan tidak responsif terhadap terapi yang tepat adalah salah satu tanda paling umum dari imunodefisiensi dan hal pertama yang menarik pasien ke dokter. Kecurigaan terhadap imunodefisiensi muncul karena adanya infeksi berat tanpa demam dan leukopenia, serta infeksi kuman yang pada dasarnya bersifat patogen atau infeksi oportunistik. Namun seringkali ditemukan adanya kelainan pada komponen sistem imun lain yang tidak dapat dibedakan secara

klinis satu sama lain, serta jumlah leukosit yang normal namun fungsinya tidak memadai.

Terdapat perbedaan pandangan di antara para ahli mengenai penggunaan laboratorium pemeriksaan untuk tujuan diagnostik. Meskipun beberapa orang mendasarkan penilaiannya pada imunitas humoral atau seluler, ada pula yang mengambil pendekatan berbeda. Salah satunya dipresentasikan pada konferensi berurutan yang diselenggarakan secara algoritmik yang diadakan pada tahun 1988 di Universitas California, Los Angeles (UCLA).

Prosedur pemeriksaan laboratorium terdiri dari pemeriksaan skrining dan rencana rinci untuk mempelajari kelainan neutrofil, serta tes skrining untuk mempelajari fungsi limfosit B, T, dan komplemen. Ruang lingkup rencana kerja disesuaikan dengan kondisi spesifik pasien, dengan mempertimbangkan faktor-faktor seperti usia, hasil pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan penunjang tambahan, saat menentukan urutan.

3.5.1 Uji Saring

Pemeriksaan Leukosit, trombosit, retikulosit, dan jenis leukosit dihitung dengan mengamati morfologi eritrosit sebagai bagian dari prosedur kelompok uji skrining, serta leukosit dan kultur kuman. Disfungsi sistem kekebalan sering dicurigai berdasarkan mikroorganisme yang terdeteksi dalam kultur atau sediaan. Meskipun virus atau jamur biasanya menunjukkan kelainan pada imunitas seluler (limfosit T), kuman pirogenik biasanya menunjukkan kelainan pada fagosit, komplemen, dan limfosit B (Kresno, 2010).

Morfologi hemoglobin, eritrosit, dan retikulosit diperiksa untuk menyaring anemia hemolitik. Potensi kekurangan glukosa-6-fosfat dehidrogenase (G6PD). Sindrom Wiskott-Aldrich sering dikaitkan dengan trombositopenia dan eksim, sedangkan sindrom Chediak-Higashi, defisiensi granula spesifik, dapat dicurigai jika neutrofil dengan granula menyimpang (granul sitoplasma raksasa) hadir bersamaan dengan albinisme. Pengujian tambahan diperlukan jika jumlah neutrofil kurang dari 1800/ul atau jumlah limfosit

absolut kurang dari 1500/ul, karena hasil ini menunjukkan defisiensi imun seluler (Darwin, Elvira and Elfi, 2021).

Apabila pemeriksaan skrining di atas tidak menunjukkan adanya kelainan, lakukan pemeriksaan yang dilanjutkan dengan pemeriksaan imunitas humoral yang meliputi pengukuran kadar imunoglobulin (IgG, IgA, IgM, IgE), titer isohemagglutinin, dan kadar komplemen terutama C3 dan C4. seperti tes hemolitik CH50. Kelainan sel B ditandai dengan penurunan kadar imunoglobulin, sedangkan sindrom hiper-IgE ditandai dengan peningkatan kadar IgE. Hipokomplementemia, yang ditandai dengan penurunan fungsi dan kadar komplemen, juga dapat disebabkan oleh penyakit autoimun dan defisiensi imun yang menyertainya. Kelainan seluler yang berhubungan dengan sel B juga dapat diamati, dan pengujian dilakukan selama pemeriksaan lanjutan (Darwin, Elvira and Elfi, 2021).

3.5.2 Pemeriksaan Lanjutan

Jika hasil tes humoral normal, sebaiknya dilakukan tes imunitas seluler untuk mencari kelainan pada sel T. Seringkali, pengujian kuantitatif saja tidak menunjukkan adanya hubungan dengan fungsi sel. Tes kulit dan tes fungsi limfosit, seperti tes stimulasi limfosit dengan stimulasi mitogen (transformasi balst) atau tes faktor penghambat migrasi (MIF), merupakan tes imunitas seluler kualitatif yang umum. Ada beberapa metode untuk menghitung sel T, salah satunya adalah dengan menggunakan prinsip imunofluoresensi bersama dengan antibodi monoklonal untuk mendeteksi penanda tertentu pada permukaan sel.

Pemeriksaan ini dapat dilakukan dengan menggunakan mikroskop fluoresensi atau alat yang lebih canggih yang dapat secara otomatis mengurutkan setiap populasi dan subpopulasi limfosit berdasarkan penanda permukaannya (CD), seperti flow cytometer atau fluoresensi yang diaktifkan. Hasil tes kulit negatif atau hasil tes stimulasi negatif menunjukkan rendahnya jumlah sel T pada individu yang kekurangan sel T (OC, 2004).

Prinsip yang sama dapat digunakan untuk menguji limfosit B pada tingkat sel, seperti aktivitas mitogen atau antigen dan tingkat produksi antibodi. Kemampuan sel B yang terstimulasi untuk

memproduksi atau mengeluarkan imunoglobulin setelah berkembang menjadi sel plasma diperiksa dalam uji biosintesis ini. Hal ini dilakukan dengan menggunakan flow cytometer atau mikroskop UV untuk memeriksa imunoglobulin intracytoplasmic yang diwarnai dengan anti-imunoglobulin berlabel fluorescein, atau dengan mengukur jumlah imunoglobulin yang disekresikan menggunakan radioimmunoassay (OC, 2004) (Bonilla FA, Bernstein L, Khan DA, Ballas ZK, Chinen J, Frank MM, 2005).

Fungsi fagositosis dapat dinilai secara bertahap berdasarkan tahapan proses fagositosis seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, namun uji nitroblue tetrazolium (NBT) adalah yang paling sederhana. Tes NBT mengevaluasi kapasitas neutrofil untuk mengubah NBT menjadi formazan biru. Hal ini menunjukkan bagaimana neutrofil dapat menghasilkan superoksida dan H₂O₂, yang dapat membunuh bakteri intraseluler. Di antara kondisi lainnya, hasil abnormal pada tes NBT diamati pada penyakit granulomatosa kronis (CGD). Chemiluminescence juga dapat digunakan untuk melakukan tes pembentukan superoksida, yang mengevaluasi fungsi neutrofil (Kresno, 2010).

Tes motilitas dan kemotaksis dapat dilakukan secara in vivo menggunakan skin window test Rebuck atau in vitro dengan leukosit, serum pasien, dan serum kontrol. Gangguan fagosit primer, seperti yang berhubungan dengan defisiensi granul spesifik, ditunjukkan dengan hasil tes abnormal yang menggunakan serum pasien dan kontrol. jika saja tes serum memberikan hasil yang menyimpang. Ada kemungkinan pasien mengalami defisiensi komplemen atau defisiensi kemotaksis sekunder jika hasil tes serum kontrol normal.

Fungsi limfosit dapat diuji dengan mengukur kecepatan sintesis DNA menggunakan autoradiografi atau spektrofotometer kilau. Baru-baru ini, molekul permukaan pada sel yang diaktifkan telah diidentifikasi menggunakan metode aliran sitomertri, yang dapat digunakan untuk mengukur tingkat proliferasi sel. Evaluasi fungsi fagosit dan limfosit biasanya melibatkan pengujian biologis dan kelainan intrinsik yang berbeda. Karena hasil tes ini sulit untuk diinterpretasikan pada kelainan fungsional parsial, metode ini biasanya hanya dapat mendeteksi kelainan lengkap. Namun hasil

pemeriksaan di atas dapat digunakan untuk mendukung diagnosis yang lebih komprehensif jika dipadukan dengan anamnesis dan pemeriksaan fisik secara menyeluruh (Darwin, Elvira and Elfi, 2021).

Tabel 3.2. Tes Laboratorium Awal, tambahan dan lanjutan pemeriksaan imunodefisiensi.

Jenis Defisiensi	Pemeriksaan Awal	Pemeriksaan Lanjutan	Pemeriksaan Lanjutan
Defisiensi B	Kadar IgG, IgM, IgA, dan titer isohemaglutinin	Fenotipe sel B dengan menggunakan FCM dan antibodi monoklonal sel B	Respon antibodi terhadap Antigen vaksin (booster), Produksi antibodi in vitro sebagai respon terhadap rangsangan mitogen
Defisiensi sel T	Hitung jumlah limfosit, DTH	Fenotipe sel T / subset limfosit menggunakan flowcytometer dan antibodi monoklonal terhadap sel T	Respons proliferasi sel T terhadap rangsangan antigen test ADA, PNP. Produksi sitokin sebagai respon terhadap rangsangan sitotoksitas sel NK
Defek fagosit	Hitung jumlah leukosit, jenis leukosit, morfologi neutrofil	Uji NBT (nitroblue tetrazolium), test fungsi fagositosis dengan flowcytometer, dan	Chemotaksis, G6PD, Fungsi sumsum tulang

Jenis Defisiensi	Pemeriksaan Awal	Pemeriksaan Lanjutan	Pemeriksaan Lanjutan
		pengukuran molekul adhesi dengan flowcytometer	
Defek Komplemen	Kadar komplemen C3, C4	Uji hemolitik CH50, Uji hemolitik AH50	Aktivitas khemotaktik, kadar masing-masing komplemen
Umum			Metoda molekuler Southern & Western blot, PCR/SSCP

Sumber : (Kresno, 2010)

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichtman AH, P.S. (2006) *Cellular and molecular immunology 6th ed. Philadelphia, WB Saunders.*
- Bonilla FA, Bernstein L, Khan DA, Ballas ZK, Chinen J, Frank MM, E. a. (2005) *Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. Ann Allergy, Asthma Immunol.*
- Darwin, E., Elvira, D. and Elfi, E.F. (2021) *Imunologi dan Infeksi, andalas University Press.*
- El-far M, Halwani R, Said E, Trautmann L, Doroudchi M, J.L. (2008) 'T-Cell exhaustion in HIV infection', *Cuur HIV//AIDs*, 5, pp. 13–19.
- Johnston, M.I.A.S.F. (2008) *An HIV Vaccine – Challenges and Prospects, N.Engl. J. Med.*
- Kresno, S.B. (2010) *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium.*
- Kumar VK, Abbas AK, F.N.R. and C. (2005) *Pathologic Basis of Disease. Internal ed. Philadelphia: Elsevier saunders.*
- Mansyur, A.R. (2020) 'Dampak COVID-19 Terhadap Dinamika Pembelajaran Di Indonesia', *Education and Learning Journal*, Vol. 1, No, pp. 113–123.
- OC, I. (2004) *Current applications of flowcytometry in the diagnosis of primary immunodeficiency disease.*
- Pagaya, J. (2014) 'RESPONS IMUN SELLULER DAN HUMORAL TERHADAP INFEKSI HIV', *Prosiding Seminar Nasional Basic Science VI*, 5(1), pp. 375–384.
- Saraswati, H. (2021) 'Modul Immunodefisiensi', *Modul Imunologi*, (Ibl 341), pp. 0–13.

BAB 4

PEMERIKSAAN METODE IMUNOKROMATOGRAFI UNTUK DETEKSI ANTIBODI

Oleh Ria Amelia

4.1 Pendahuluan

Teknologi diagnosis tes cepat/ *rapid test*, imunokromatografi dikenal sebagai Lateral Flow Immunoassay (LFA). LFA merupakan teknologi dengan prinsip dasar kertas (*paper base platform*) yang digunakan untuk mendeteksi analit ditandai dengan reaksi enzimatis jika terbentuk ikatan antigen-antibodi. LFA termasuk dalam metode enzyme immunoassay (EIA) homogen (Stevens, 2010; Amelia, 2020). Kelebihan metode imunokromatografi diantaranya yaitu murah, cepat, mudah digunakan, simpel, memiliki umur simpan yang lama, disimpan pada suhu ruang dan tidak memerlukan alat pembaca (O'Farrell, 2009; O'Kennedy and Murphy, 2017).

Imunokromatografi terdiri dari beberapa komponen yang disatukan menjadi strip test. Komponen tersebut adalah *backing card*, *sample pad*, *conjugate pad*, *nitrocellulose membrane*, dan *absorbent pad* (O'Farrell, 2009). Pada masing-masing komponen memiliki fungsinya masing-masing. *Backing card* merupakan komponen dasar yang berfungsi untuk menopang dan menahan komponen-komponen lainnya agar bisa menyatu. *Sample pad* berfungsi untuk absorbs sampel, separasi dari pengotor, dan mengontrol distribusi dan aliran sampel ke *conjugate pad*. *Conjugate pad* merupakan tempat meletakkan antibodi untuk target analit yang sudah dikonjugasikan dengan gold nanoparticle sebagai pewarna. *Membran nitroselulosa* merupakan media untuk mengimobilisasi antibodi/antigen deteksi dan antibodi kontrol. *Wick pad* berfungsi memberikan aliran kapiler yang seragam melalui membran, menyerap sampel dan mencegah backflow. Pada

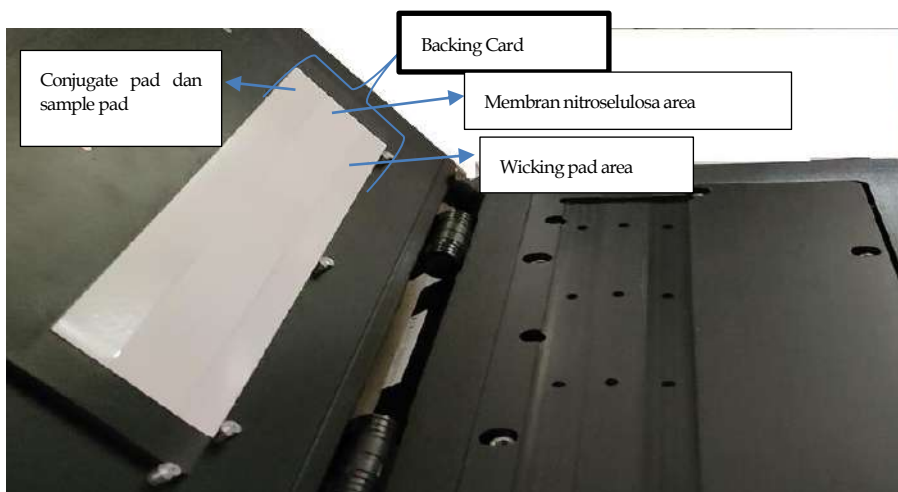
Bab ini akan dibahas mengenai prinsi dasar dari metode imunokromatografi untuk mendeteksi antibodi.

4.2 Komponen Imunokromatografi

4.2.1 Backing Card

Backing card sebagai platform yang dapat dirancang susunannya agar sesuai dengan persyaratan spesifik setiap pengujian. *Backing card* tersusun atas terdiri dari tiga komponen yaitu lapisan plastik semi kaku, lapisan perekat, dan lapisan pelepas. Plastik yang paling umum digunakan untuk uji immunoassay aliran lateral adalah polistiren, vinil (poli vinil klorida atau PVC), dan poliester. Ketebalan yang umum tersedia yaitu a. 0,005 inci untuk poliester, b. 0,010 inci untuk polistiren, poliester, dan vinil, c. 0,015 inci untuk polistiren dan vinil.

Ketebalan *backing card* merupakan pertimbangan utama desain strip tes. Bagian belakang yang lebih tipis dengan ketebalan 0,005 hingga 0,010 inci biasanya digunakan untuk strip tes/ zona garis tes. Pada Gambar 4.1 merupakan gambaran untuk *backing card* yang merupakan dasar untuk menempelkan komponen LFA yang lain.



Gambar 4.1. *Backing card* pada alat LM 5.000 Laminating system (BioDot) (Sumber : Pribadi)

4.2.2 Antibodi

Antibodi merupakan salah satu komponen penyusun LFA. Antibodi biasanya dikonjugasikan dengan gold partikel. Antibodi yang telah berkonjugasi dengan gold partikel akan diletakkan pada conjugate pad area. Antibodi yang akan dikonjugasikan dengan gold sebaiknya tidak mengandung protein lain atau garam dalam pelarutnya (Biagini *et al.*, 2007; O'Farrell, 2009). Beberapa produk komersil antibodi monoklonal biasanya mengandung aditif untuk stabilizer seperti bovine serum albumin (BSA) atau preserpatif seperti sodium azide yang harus dihilangkan untuk memaksimalkan efisiensi konjugasi. Antibodi dapat dimurnikan dengan menggunakan spin column atau tubing dialysis dengan MWCO 5kDa. Buffer yang dapat digunakan untuk melarutkan protein setelah pemurnian adalah 10mM Potassium Phosphate pH 7.4. Konsentrasi protein yang akan dikonjugasi sebaiknya memiliki konsentrasi $\geq 1\text{mg/mL}$ (Hendrickson *et al.*, 2021).

4.2.3 Koloid Emas (*Gold Coloid*) dan Macam-macam label LFA

Perkembangan label atau penanda untuk immunoassay aliran lateral telah berjalan seiring dengan kemajuan metodologi deteksi dan instrumentasi. Pengujian yang sangat sensitif menggunakan label fluoresen dan luminescent telah muncul dalam beberapa tahun terakhir, awalnya perkembangan kit deteksi immunoassay heterogen atau homogen berbasis non-membran. Seiring waktu, metode tersebut telah diadaptasikan ke dalam format LFA. Persyaratan label dan detektor pada LFA harus mempertimbangkan sensitivitas, masa expired, stabilitas, dan biaya. Label yang ideal untuk uji LFA memiliki karakteristik berikut:

1. Dapat dideteksi dengan berbagai metode atau teknologi pada rentang waktu yang sangat panjang dan berguna.
2. Kimia konjugasi bersifat sederhana sehingga bahan biologi dan bahan kimia dapat terkonjugasi tanpa kehilangan integritas dan aktivitasnya.
3. Bersifat non-spesifik, sehingga dapat mengikat analit dalam kondisi banyak garam, buffer, dan deterjen.
4. Stabil dalam berbagai kondisi kimia dan suhu
5. Tersedia secara komersial dengan biaya rendah.

6. Prosedur konjugasi mudah, hemat biaya, dan terukur.
7. Mudah diproses di hilir.
8. Mampu digunakan untuk deteksi multi-analit.
9. Dapat digunakan untuk mengantisipasi kemajuan teknologi.

Namun, tidak ada label yang memiliki semua karakteristik ini. Satu kemudian harus memilih label berdasarkan ketentuan penggunaan berikut:

1. Metode deteksi/visualisasi.
2. Analit yang akan dideteksi.
3. Jangkauan *cut off* deteksi.
4. Lingkungan di mana pengujian harus dilakukan, dan disimpan.
5. Bahan biologis atau bahan kimia yang harus diikat pada label, dan bahan kimia yang tersedia yang dapat digunakan untuk menghindari perubahan bentuk atau hambatan.
6. Kuantitas dan kualitas bahan yang tersedia.
7. Pertimbangan biaya.
8. Kebutuhan masa depan

Macam-macam label LFA yaitu liposome, koloid karbon, koloid emas, probes fluorescent, *quantum dots*, *upconverting phosphors*, *bioluminescent markers*, *enzymes labels*, partikel paramagnetik, dan partikel lateks. Koloid emas mungkin merupakan label yang paling banyak digunakan saat ini dalam imunokromatografi/LFA komersial karena Persiapannya di laboratorium cukup mudah dan murah. Warnanya intens, dan tidak diperlukan proses pengembangan untuk visualisasi. Label ini sangat stabil dalam bentuk cair atau kering dan tidak mengalami pemutihan setelah diwarnai pada membran. Selain itu, koloid emas dalam bentuk tak terkonjugasi (yang siap untuk diberi label) dan bentuk terkonjugasi (terkonjugasi dengan bahan biologis) kini tersedia di banyak komersial (Berlina *et al*, 2018).

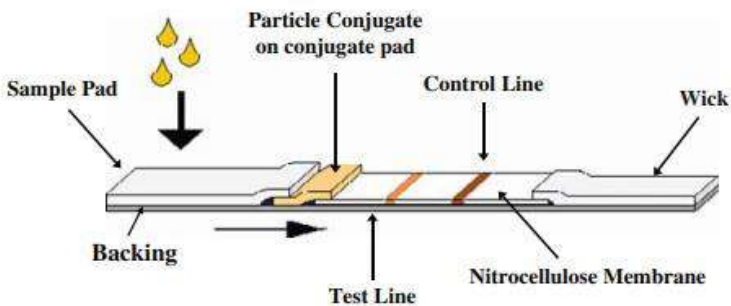
4.2.4 Membran Nitroselulosa

Membran nitroselulosa dianggap sebagai bahan paling penting dalam strip imunokromatografi. Membran yang ada dijual

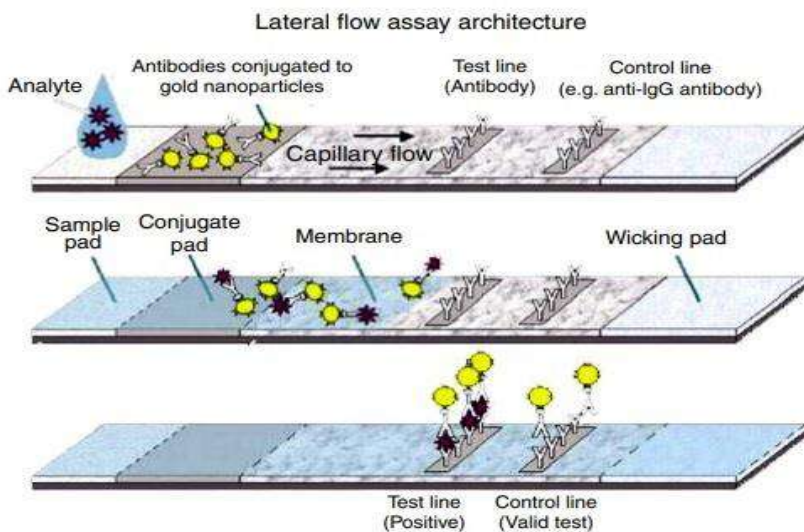
saat ini sudah berstandar. Membran yang digunakan untuk kit LFA pada berbagai kecepatan aliran dan uji kendali mutu yang relevan telah dikembangkan untuk mengakomodasi persyaratan pengembang pengujian. Pemanfaatan membran nitroselulosa yang tepat memerlukan pemahaman sifat fisik dan kimia utama yang berhubungan dengan fungsionalitas strip uji. Aspek penting lainnya termasuk penanganan membran dengan benar untuk meminimalkan kerusakan fisik dan mengintegrasikan membran ke dalam strip uji untuk mengoptimalkan konsistensi aliran (O'Farrell, 2009; Hendrickson *et al.*, 2021).

4.3 Desain Strip LFA

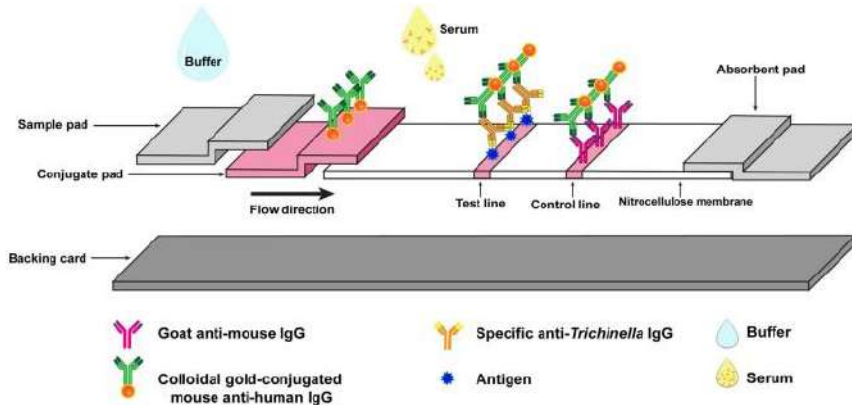
Kit imunokromatografi dibagi menjadi tiga macam yaitu secara langsung / *direct* contoh kit LFA deteksi antigen, tidak langsung atau *indirect* contoh kit LFA deteksi antibodi dan kompetitif seperti kit deteksi NAPZA. Interpretasi hasil positif pada imunokromatografi langsung (*direct*) dan tidak langsung (*indirect*) ditandai dengan adanya dua garis pada *test line* dan *control line*, hasil negatif ditandai dengan satu garis pada *control line*, dan hasil intermediate ditandai dengan tidak adanya garis pada *control line*. Ilustrasi dasar penyusunan komponen dan perbedaan antara LFA langsung dan tidak langsung dapat dilihat pada Gambar dibawah ini.



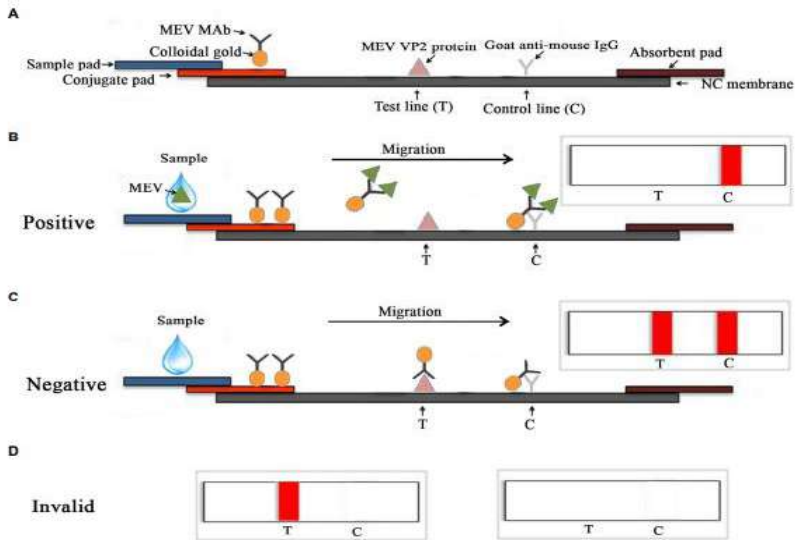
Gambar 4.2. Dasar penyusunan kit imunokromatografi (O'Farrell, 2009).



Gambar 4.3. Ilustrasi susunan komponen strip imunokromatografi langsung/ *direct* (Paulini *et al.*, 2017).



Gambar 4.4. Ilustrasi susunan komponen strip imunokromatografi tidak langsung/ *indirect*. Pada kit LFA tidak langsung pada test line terdapat antigen yang dapat berikatan dengan antibodi pada serum dan pada kit terdapat buffer yang ditetaskan pada sampel pad sebagai pengencer agar aliran berjalan lancar sampai menuju absorbent pad (Thanchomngang *et al.*, 2021).



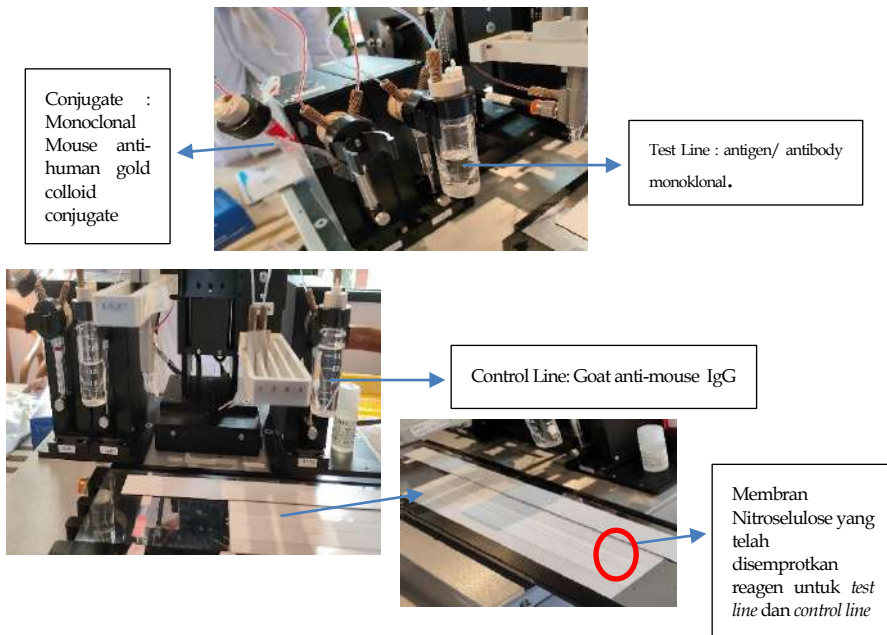
Gambar 4.5. Ilustrasi susunan komponen strip imunokromatografi kompetitif. Kit imunokromatografi kompetitif biasanya digunakan untuk mendeteksi obat atau analit yang terdapat dalam serum. Interpretasi hasil pada imunokromatografi kompetitif berbeda dengan imunokromatografi langsung dan tidak langsung. Hasil positif kit imunokromatografi kompetitif ditandai dengan adanya satu garis pada garis kontrol (Lin *et al.*, 2022).

4.4 Prosedur pembuatan LFA

Alur tahapan pembuatan LFA dimulai dari jenis LFA yang akan dibuat. Jika ingin membuat LFA tidak langsung /*indirect* untuk mendeteksi antibodi maka ada tiga bahan yang perlu dipersiapkan yaitu conjugate, antigen pada *test line*, dan antibodi pada *control line*. Ketiga bahan ini dapat diperoleh melalui penelitian atau pengembangan secara mandiri atau membeli setiap komponen di pasar komersil karena saat ini bahan-bahan tersebut tersedia dalam kondisi siap pakai, hanya diperlukan optimasi untuk pengembangan kit.

Setelah ketiga bahan tersebut tersedia, langkah selanjutnya yaitu menyemprotkan semua bahan tersebut menggunakan mesin dispensing. Mesin dispensing digunakan untuk menyemprotkan cairan conjugate pada conjugate pad, antigen pada *test line*, dan

antibodi pada *control line* pada membran nitroselulosa. Langkah selanjutnya mengeringkan conjugate pad dan membran nitroselulosa menggunakan inkubator, lalu inkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C. Ilustrasi proses dispensasi dapat dilihat pada Gambar 4.6 dibawah ini.



Gambar 4.6. Proses dispensing antigen pada *test line*, dan antibodi pada *control line* pada membran nitroselulosa (Sumber : Pribadi).

Ketika semua bahan sudah kering, langkah selanjutnya yaitu tahapan penempelan semua komponen pada *backing card* melalui proses laminating dengan menggunakan alat laminating. Setelah tahapan laminating, ada tahapan pengguntingan kit menjadi strip test menggunakan mesin *cutter*. dan tahapan terakhir yaitu pengemasan ke dalam kaset dan uji mutu kelayakan kit seperti uji sensitivitas dan spesifisitas kit. Ilustrasi proses laminating dan pengguntingan dapat dilihat pada Gambar 6.7 dibawah ini.



Gambar 4.7. Tahapan Laminating, Cutting, Pengemasan dan Uji kit LFA (Sumber: Pribadi).

DAFTAR PUSTAKA

- O'Kennedy, R. and Murphy, C. (2017) *Introductory Immunology Basic Concept for Interdisciplinary Applications*. 1st edn. New York: Pan Stanford Publishing Pte. Ltd.
- Amelia, R. (2020) 'Imunoserologi', in *Imunoserologi Teknologi Laboratorium Medik*. 1st edn. Jakarta: EGC, p. 184.
- Berlina, A.N. *et al.* (2018) 'Development of immunochromatographic assay for determination of tetracycline in human serum', *Antibiotics*, 7(4), pp. 1–11. Available at: <https://doi.org/10.3390/antibiotics7040099>.
- Biagini, R.E. *et al.* (2007) 'Analytical performance criteria the use of immunochemical and biosensor methods for occupational and environmental monitoring. Part I: Introduction to immunoassays', *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 5(2), pp. D25–D32. Available at: <https://doi.org/10.1080/15459620701798182>.
- Hendrickson, O.D. *et al.* (2021) 'Sensitive lateral flow immunoassay of an antibiotic neomycin in foodstuffs', *Journal of Food Science and Technology*, 58(1), pp. 292–301. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04541-z>.
- Lin, P. *et al.* (2022) 'Development of an Immunochromatographic Strip for Rapid Detection of Mink Enteritis Virus', *Frontiers in Microbiology*, 13(March). Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.839320>.
- O'Farrell, B. (2009) 'Evolution in Lateral Flow–Based Immunoassay Systems', in *Lateral Flow Immunoassa*. 1st edn. New York: Humana Press, pp. 1–34. Available at: <https://doi.org/10.1007/978-1-59745-240-3>.
- Paulini, I. *et al.* (2017) 'Development of a prototype immunochromatographic test for rapid diagnosis of respiratory adenovirus infection', *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 21(5), pp. 500–506. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2017.03.023>.
- Stevens, C.D. (2010) *Clinical immunology and serology: a laboratory perspective*. 3rd edn. Philadelphia: Davis Company.

Thanchomnang, T. *et al.* (2021) 'Development of an immunochromatographic point-of-care test for detection of IgG antibody in serodiagnosis of human trichinellosis', *International Journal of Infectious Diseases*, 111, pp. 148–153. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.08.056>.

BAB 5

PEMERIKSAAN METODE IMUNOKROMATOGRAFI UNTUK DETEKSI ANTIGEN

Oleh Haerani Harun

5.1 Pendahuluan

Pemeriksaan Imunokromatografi untuk antigen saat ini digunakan secara luas untuk mendeteksi berbagai penyakit yang mengganggu kesehatan manusia. Penyakit tersebut terutama penyakit infeksi yang disebabkan oleh agen infeksi tertentu seperti bakteri, virus, parasit dan agen infeksi lain. Pemeriksaan imunokromatografi membantu mendeteksi adanya komponen antigen dan antibodi pada sampel pasien yang dicurigai.

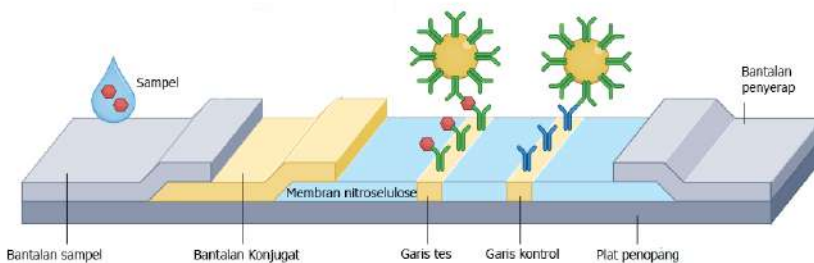
Pemeriksaan imunokromatografi umumnya juga dikenal dengan nama uji aliran lateral (*lateral flow assay*). Pemeriksaan imunokromatografi memberikan alternatif pemeriksaan yang mudah, murah dan cepat dibandingkan dengan pemeriksaan konvensional. Pemeriksaan imunokromatografi umumnya dilakukan pada kondisi yang membutuhkan hasil cepat seperti uji skrining dan kegawatdaruratan. Dibalik keuntungan yang ditawarkan oleh pemeriksaan imunokromatografi, sensitivitas dan spesifitas pemeriksaan juga harus diperhatikan (Naik and Lata 2013).

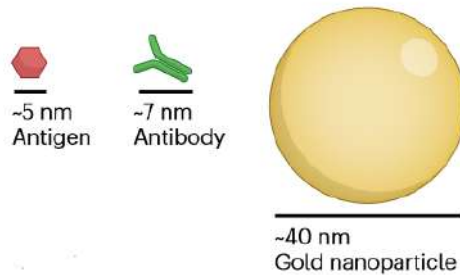
Pemeriksaan aliran lateral imunokromatografi mendapat popularitas setelah penggunaan alat pemeriksaan imunokromatografi *human chorionic gonadotropin* (hCG) digunakan secara luas. Setelah itu penggunaan pemeriksaan imunokromatografi melebar hingga deteksi antigen agen infeksi, toksin pada makanan, sampel dari lingkungan, obat ilegal, penyakit agrikultural dan lain-lain (Naik and Lata 2013).

5.2 Prinsip Dasar Uji Aliran Lateral

Uji imunokromatografi menggunakan prinsip imunologis untuk mendeteksi suatu zat spesifik dengan pengikatan antigen dan antibodi. Kit atau alat yang digunakan menggunakan membran khusus nitroselulose sebagai media untuk terjadinya reaksi. Pada proses ini digunakan dua jenis antibodi spesifik. Salah satu antibodi terhadap antigen terdapat pada membran konjugat dan berlabel koloidal emas, antibodi terhadap antigen yang lain tertanam pada membran nitroselulosa membentuk garis tes. Antibodi terhadap antibodi pertama yang berlabel koloidal emas juga tertanam di membran selulosa pada garis kontrol. Garis tes dan garis kontrol berada pada area deteksi

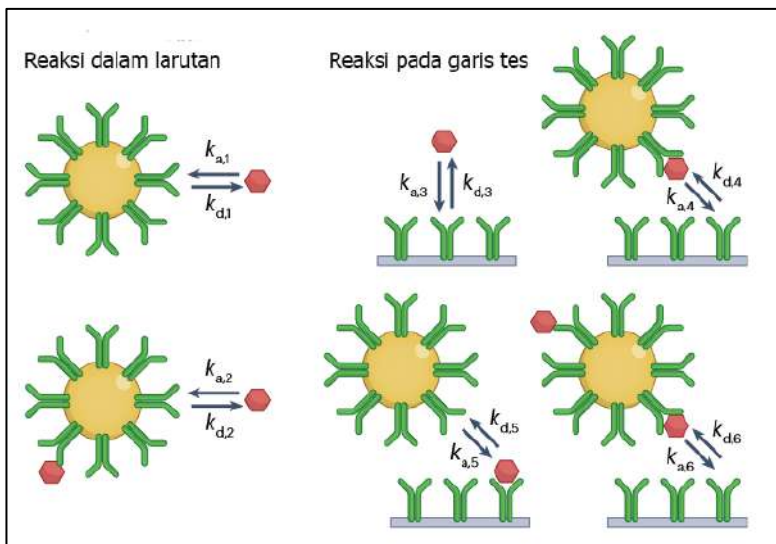
Sampel masuk melalui bantalan sampel, apabila terdapat antigen pada sampel maka partikel sampel akan terikat pada antibodi berlabel koloidal emas. Kompleks antibodi antigen yang telah terikat akan terus mengalir ke area deteksi dan akan mengikat antibodi yang tertanam pada garis tes sehingga membentuk garis tes. Sisa kompleks antigen dan antibodi juga akan terikat dengan antibodi pada garis kontrol di mana terjadi ikatan antara antibodi berlabel koloidal emas dengan antibodi anti Imunoglobulin dan membentuk garis kontrol. Pada kondisi sampel tidak mengandung antigen, tidak akan terjadi pembentukan kompleks antigen antibodi antara sampel dengan antibodi berlabel koloidal emas. Antibodi berlabel koloidal emas akan langsung mengalir ke antibodi anti imunoglobulin pada garis kontrol sehingga yang muncul hanya satu garis sedang garis tes tidak membentuk warna (Koczula and Gallotta 2016; Naik and Lata 2013)





Gambar 5.1. Skema dasar alat imunokromatografi
(Sumber: Modifikasi dari Budd et al. 2023)

Alat atau kaset imunokromatografi merupakan gabungan beberapa komponen yang kompak di mana terdapat area utama bantalan sampel tempat meneteskan sampel dan area deteksi untuk melihat hasil pemeriksaan. Sampel yang masuk melalui bantalan sampel akan mengalir ke arah bantalan penyerap melalui area deteksi sehingga terlihat adanya aliran yang akan melewati komponen antibodi sehingga terjadi reaksi.

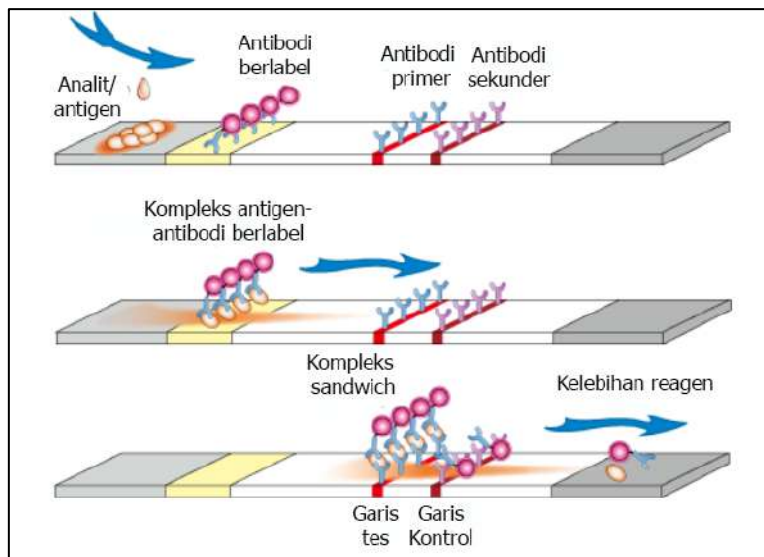


Gambar 5.2. Proses pengikatan antigen pada antibodi pada bantalan konjugat (larutan) dan antibodi pada garis tes
(Budd et al. 2023)

Pada gambar 5.2 diperlihatkan proses pengikatan antigen terhadap antibodi. Asosiasi (κ_a) dan disosiasi (κ_b) terjadi dalam ikatan tersebut dan dienumerasi berdasarkan afinitas ikatan reaksi yang berbeda beda. Reaksi dalam larutan adalah reaksi yang pertama terjadi antara antigen dari sampel dengan antibodi yang terdapat pada bantalan konjugasi. Kompleks ikatan ini akan mengalir ke arah garis tes yang terdapat antibodi tertanam. Antibodi kedua juga akan mengikat antigen yang telah terikat dalam kompleks antigen antibodi sehingga akan membentuk ikatan *sandwich* antibodi antigen antibodi (Budd et al. 2023)

5.3 Jenis Imunokromatografi

5.3.1 Metode *Sandwich*



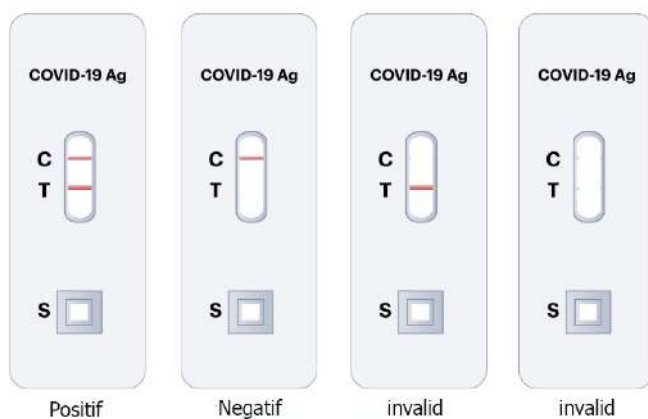
Gambar 5.3. Reaksi pada metode *sandwich*
(Sumber: Modifikasi dari Creative Diagnostic 2014)

Metode *sandwich* adalah metode yang umumnya digunakan untuk imunokromatografi. Reaksi imunologis *sandwich* terjadi pada garis tes, yang terdiri atas antibodi berlabel-antigen-antibodi tertanam pada garis tes. Pada garis kontrol terjadi ikatan antara antibodi berlabel dengan antibodi anti IgG pada garis kontrol. Garis kontrol akan nampak pada hasil positif maupun negatif yang akan

menunjukkan bahwa fungsi alat imunokromatografi valid (Rosyidi et al. 2013).

Pemeriksaan imunokromatografi metode *sandwich* merupakan metode pemeriksaan yang paling banyak digunakan. Tidak hanya untuk pemeriksaan hCG pada kehamilan, metode *sandwich* juga banyak digunakan untuk pemeriksaan antigen pada penyakit infeksi seperti hepatitis B (HbsAg), demam berdarah dengue (NS1), antigen SARS-CoV-2 pada penyakit Corona Virus Disease 2019 (Covid-19) dan banyak pemeriksaan lain (Corstjens et al. 2007).

Hasil pemeriksaan imunokromatografi biasanya memerlukan waktu yang telah ditentukan untuk mengetahui hasil yang valid. Waktu tepat pembacaan hasil sangat penting untuk menghindari hasil positif palsu maupun negatif palsu. Pada metode *sandwich* hasil positif ditandai dengan adanya dua garis yaitu garis tes dan garis kontrol. Hasil negatif ditandai dengan adanya satu garis yaitu pada garis kontrol sedangkan pada garis tes tidak terbentuk garis. Apabila tidak terbentuk garis pada garis kontrol baik ada atau tidak garis pada garis tes maka hasil tersebut invalid dan tidak dapat digunakan (Koczula and Gallotta 2016)



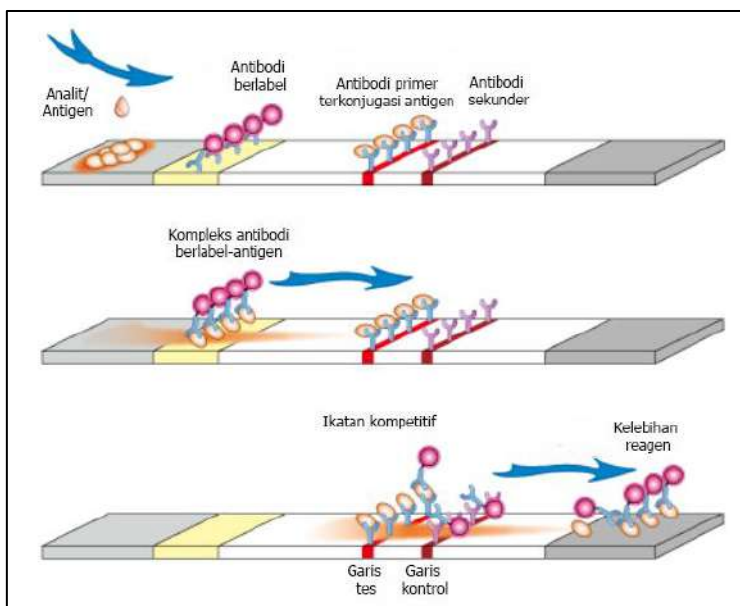
Gambar 5.4. Interpretasi hasil imunokromatografi metode *sandwich*

(Sumber: Modifikasi dari Budd et al. 2023)

5.3.2 Metode Kompetitif

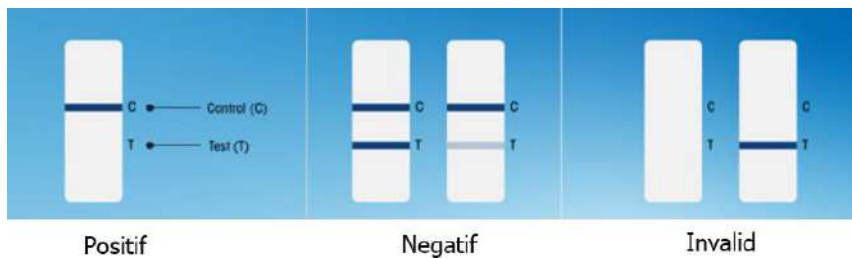
Imunokromatografi metode kompetitif menggunakan ikatan antibodi berlabel antara antigen bebas dari sampel dan antigen yang terikat pada garis tes. Pada alat imunokromatografi metode kompetitif menanamkan antigen yang bermaksud dideteksi pada garis tes, berbeda dengan metode *sandwich*, pada garis tes hanya terdapat antibodi. Hasil yang ditampilkan juga berbeda dengan metode *sandwich* (Sun et al. 2021).

Apabila di sampel terdapat antigen maka antibodi yang terdapat pada bantalan konjugat akan mengikat antigen dari sampel. Kompleks antibodi antigen pada bantalan konjugat akan mengalir ke garis tes, antigen yang tertanam pada garis tes tidak dapat mengikat antibodi karena antibodi tersebut telah terikat dengan antigen dari sampel. Hasilnya pada garis tes tidak akan terbentuk garis karena tidak terjadi ikatan antigen tertanam dan antibodi. Makin banyak antigen yang terdapat pada sampel makan makin sedikit ikatan antigen antibodi yang terbentuk pada garis tes. (Qriouet et al. 2021).



Gambar 5.5. Skema reaksi ikatan pada imunokromatografi kompetitif (sumber: modifikasi dari Qriouet et al. 2021)

Sisa reagen akan mengalir ke garis kontrol. Antibodi berlabel akan terikat dengan antibodi anti IgG dan membentuk ikatan yang akan menghasilkan garis kontrol. Hasil positif pada metode kompetitif tidak membentuk garis pada garis tes dan hanya terbentuk garis kontrol. Apabila pada sampel tidak terdapat antigen maka reaksi yang terjadi sama dengan reaksi pada metode *sandwich*. Antibodi berlabel pada bantalan konjugat tidak berikatan dengan apapun akan mengikat antigen yang tertanam pada garis tes sehingga muncul garis. Munculnya dua garis, garis tes dan garis kontrol diinterpretasikan sebagai hasil negatif (Qriouet et al. 2021).



Gambar 5.6. Interpretasi hasil pada imunokromatografi metode kompetitif
(Sumber: Modifikasi dari Steward 2023)

Interpretasi hasil metode kompetitif berbeda dengan metode *sandwich*. Satu garis pada garis kontrol dan tidak ada garis pada garis tes menunjukkan hasil positif, terdapat garis kontrol dan garis tes baik jelas maupun samar menunjukkan hasil negatif, tidak ada garis kontrol baik garis tes ada atau tidak menunjukkan hasil invalid dan harus diulang.

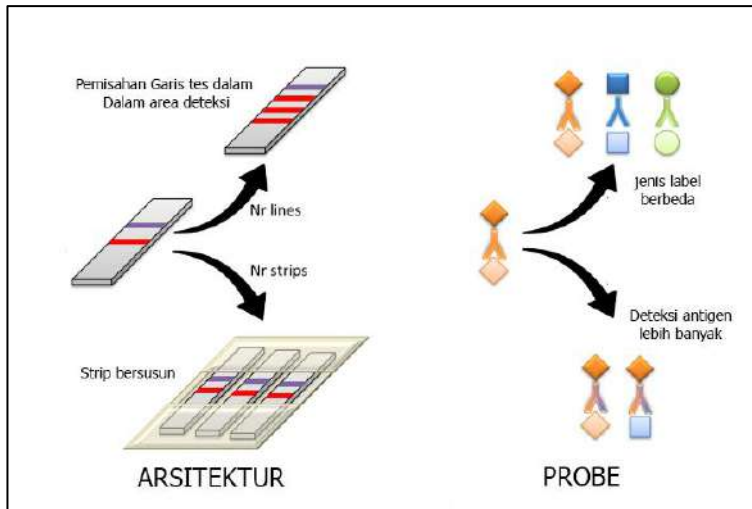
Metode pemeriksaan kompetitif paling banyak digunakan pada pemeriksaan narkotika dan obat terlarang (narkoba). Jenis sampel yang digunakan untuk pemeriksaan narkoba antara lain darah, saliva, urin, rambut, kuku dan keringat. Urin merupakan sampel yang paling banyak digunakan karena umumnya mengandung metabolit yang banyak dan cara memperoleh sampel tidak invasif. Pemeriksaan narkoba antara lain zat methamphetamine (MET), cocain (COC), marijuana (THC), morphin (MOP), Benzodiazepine (BZO) dan amphetamine (AMP). Tujuan

pemeriksaan narkoba selain untuk deteksi pada suspek pengguna narkoba juga dilakukan untuk kepentingan skrining pada kelompok masyarakat tertentu (Holis 2023; Qriouet et al. 2021)..

5.3.3 Deteksi Multipleks

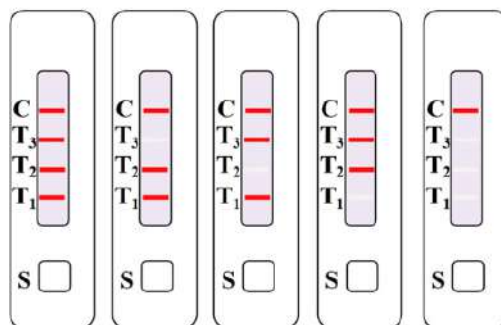
Modifikasi dari metode *sandwich* dan kompetitif dikembangkan untuk efisiensi pemeriksaan. Pengembangan tersebut salah satunya dengan menyatukan pemeriksaan beberapa analit dalam satu kaset imunokromatografi, selain untuk meningkatkan sensitivitas dan spesifitas. Kaset yang menggunakan metode ini mendeteksi lebih dari satu antigen target dalam satu sampel. Metode ini mempunyai area deteksi yang lebih luas dengan dua atau lebih garis tes sesuai jumlah antigen yang dideteksi (Corstjens et al. 2007; Kim, Chung, and Kang 2019)

Reaksi pengikatan pada dua reaksi antigen biasanya terjadi secara independen dan terpisah satu sama lain meskipun menggunakan alat kaset dan sampel yang sama. Deteksi multipel ini dapat dilakukan dengan memperlebar area deteksi. Menambah jumlah deteksi antigen berpengaruh pada identifikasi hasil pada area deteksi yang terlalu dekat. Masalah ini kemudian diperbaiki dengan menambah jarak antar garis tes namun hal ini akan menambah jumlah sampel dan materi membran yang dibutuhkan, juga waktu pemeriksaan yang memanjang. Pemisahan area deteksi menjadi beberapa bagian terpisah memerlukan manipulasi kaset minimal dan menjadi model deteksi multipleks imunokromatografi yang lebih populer (Anfossi et al. 2018; Huang et al. 2020)



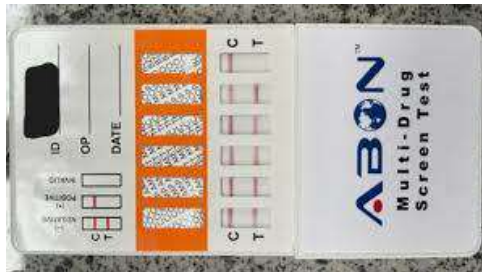
Gambar 5.7. Model arsitektur kaset imunokromatografi multipleks dan variasi *probe* yang digunakan
(Sumber: Modifikasi dari Anfossi et al. 2018)

Arsitektur kaset imunokromatografi deteksi multipleks umumnya terdapat dalam bentuk satu strip dengan beberapa garis tes atau dalam bentuk susunan beberapa strip yang masing masing mendeteksi antigen yang berbeda. Modalitas penggunaan antibodi maupun antigen juga diekplorasi menggunakan antibodi berlabel yang berbeda-beda atau jenis antibodi yang sama yang dapat menangkan lebih dari satu antigen.



Gambar 5.8. Variasi hasil positif pada kaset tunggal dengan beberapa garis tes.
(Sumber: Xu et al. 2023)

Jenis pemeriksaan yang digunakan untuk metode multipleks antara lain pemeriksaan narkoba yang dapat mendeteksi jenis obat berbeda beda dalam satu kaset. Hal ini cukup memudahkan karena jenis obat yang dideteksi biasanya lebih dari dua sehingga hasil yang diperoleh lebih cepat (Holis 2023)



Gambar 5.9. Kaset pemeriksaan narkoba 6 Parameter dengan strip bersusun.
(Sumber Holis 2023)

Tidak hanya untuk pemeriksaan Narkoba, pemeriksaan imunokromatografi multipleks juga digunakan untuk mendeteksi beberapa antigen dari penyakit berbeda seperti human immunodeficiency virus tipe 1 dan 2 (HIV-1 dan HIV-2), Hepatitis C virus (HCV) dan tuberkulosis (Corstjens et al. 2007).

DAFTAR PUSTAKA

- Anfossi, Laura, Fabio Di Nardo, Simone Cavalera, Cristina Giovannoli, and Claudio Baggiani. 2018. "Multiplex Lateral Flow Immunoassay: An Overview of Strategies towards High-Throughput Point-of-Need Testing." *Biosensors* 9 (1): 2. <https://doi.org/10.3390/bios9010002>.
- Budd, Jobie, Benjamin S. Miller, Nicole E. Weckman, Dounia Cherkaoui, Da Huang, Alyssa Thomas Decruz, Noah Fongwen, et al. 2023. "Lateral Flow Test Engineering and Lessons Learned from COVID-19." *Nature Reviews Bioengineering* 1 (1): 13–31. <https://doi.org/10.1038/s44222-022-00007-3>.
- Corstjens, Paul L. a. M., Zongyuang Chen, Michel Zuiderwijk, Haim H. Bau, William R. Abrams, Daniel Malamud, R. Sam Niedbala, and Hans J. Tanke. 2007. "Rapid Assay Format for Multiplex Detection of Humoral Immune Responses to Infectious Disease Pathogens (HIV, HCV, and TB)." *Annals of the New York Academy of Sciences* 1098 (1): 437–45. <https://doi.org/10.1196/annals.1384.016>.
- Diagnostic, Creative Diagnostic. 2014. "Immunochromatography Guide - Creative Diagnostics." 2014. <https://www.creative-diagnostics.com/Immunochromatography-guide.htm>.
- Holis, Dewi Nurmaulana. 2023. "Pemeriksaan Narkoba Dari Spesimen Urin Menggunakan Metode Imunokromatografi." September 3, 2023. https://yankes.kemkes.go.id/view_artikel/2245/pemeriksaan-narkoba-dari-spesimen-urin-menggunakan-metode-imunokromatografi.
- Huang, Lei, Shulin Tian, Wenhao Zhao, Ke Liu, Xing Ma, and Jinhong Guo. 2020. "Multiplexed Detection of Biomarkers in Lateral-Flow Immunoassays." *Analyst* 145 (8): 2828–40. <https://doi.org/10.1039/C9AN02485A>.
- Kim, Hanbi, Doo-Ryeon Chung, and Minhee Kang. 2019. "A New Point-of-Care Test for the Diagnosis of Infectious Diseases Based on Multiplex Lateral Flow Immunoassays." *Analyst* 144 (8): 2460–66. <https://doi.org/10.1039/C8AN02295J>.

- Koczula, Katarzyna M., and Andrea Gallotta. 2016. "Lateral Flow Assays." *Essays in Biochemistry* 60 (1): 111–20. <https://doi.org/10.1042/EBC20150012>.
- Naik, Laxmana, and Kiran Lata. 2013. "Lateral Flow Assay - Concept and Its Applications in Food Analysis" 32 (May): 22–38.
- Qriouet, Zidane, Yahia Cherrah, Hassan Sefrioui, and Zineb Qmichou. 2021. "Monoclonal Antibodies Application in Lateral Flow Immunochromatographic Assays for Drugs of Abuse Detection." *Molecules* 26 (4): 1058. <https://doi.org/10.3390/molecules26041058>.
- Rosyidi, Anwar, Setyawan Budiharta, Widya Asmara, and Doddi Yudhabuntara. 2013. "Pengembangan Metode Immunokromatografi untuk Deteksi secara Serologi *Campylobacter jejuni* pada Ayam" 14 (3).
- Steward, Karen. 2023. "An Introduction to the Lateral Flow Test: Strengths, Limitations and Applications." *Diagnostics from Technology Networks*. February 20, 2023. <http://www.technologynetworks.com/diagnostics/articles/an-introduction-to-the-lateral-flow-test-strengths-limitations-and-applications-370382>.
- Sun, Yaning, Suzhen Yang, Jifei Yang, Xiaofei Hu, Qiang Wei, Yao Wang, Yunrui Xing, et al. 2021. "An Accurate and Amplifying Competitive Lateral Flow Immunoassay for the Sensitive Detection of Haptens." *Food and Agricultural Immunology* 32 (1): 766–77. <https://doi.org/10.1080/09540105.2021.1989382>.
- Xu, Shujuan, Biao Ma, Jiali Li, Wei Su, Tianran Xu, and Mingzhou Zhang. 2023. "Europium Nanoparticles-Based Fluorescence Immunochromatographic Detection of Three Abused Drugs in Hair." *Toxics* 11 (5): 417. <https://doi.org/10.3390/toxics11050417>.

BAB 6

PEMERIKSAAN ELISA UNTUK DETEKSI ANTIGEN PEMERIKSAAN HBsAg

Oleh Erawati

6.1 Definisi Virus Hepatitis

Virus merupakan organisme biologi dengan sifatnya terhadap sel host parasit obligat, yang diartikan virus hanya bisa hidup pada sel dan organisme hidup. Virus yang masuk ke tubuh host akan bersifat patogen baik yang ringan sampai menimbulkan masalah yang sangat serius sampai kematian. Host yang terinfeksi virus berupa berbagai macam makhluk hidup baik tumbuhan, hewan bahkan manusia (Priastomo et al., 2021).

Virus berbeda dari mikroorganisme bersel tunggal lainnya seperti bakteri, parasit, protozoa, jamur dan mikoplasma. Virus memiliki materi genetik berupa DNA dan beberapa tipe RNA serta mempunyai sistem kompleks yang bertugas untuk menghasilkan energi dan komponen makromolekul (Hutomo, 2021).

Klasifikasi virus dilakukan dengan memperhatikan karakteristik virus yaitu berdasarkan Asam nukleat genom, Simetri kapsid, berdasarkan ada tidaknya envelop (Amplop) virus, berdasarkan ukuran partikel, Reseptor Virus, Proses masuk dan keluarnya selubung virus dan Proses replikasi komponen dan biosintesis virus (Soedarto, 2015). Asam nukleat virus memiliki kekhususan genetik yang mengkodekan semua makromolekul spesifik virus dengan cara yang sangat terorganisir, Agar virus dapat bereplikasi, protein virus harus disintesis pada ukuran yang dihasilkan oleh mesin sintesis protein sel inang, Genom virus harus

mampu menghasilkan genom mRNA yang fungsional (Fusvita et al., 2023).

Penyakit yang disebabkan adanya infeksi mikroorganisme saat ini merupakan menjadi permasalahan khususnya di Indonesia yang memiliki iklim tropis dan memiliki beraneka ragam jenis mikroorganisme (Jalaludin, 2018). Beberapa penyakit infeksi yang dapat menyebabkan kematian bila tidak dilakukan penanganan secara dini dengan melakukan skrining pencegahan antara lain disebabkan oleh bakteri seperti tuberkulosis, demam tifoid, selain itu juga disebabkan oleh virus seperti *Human Immunodeficiency Virus* (HIV), berbagai macam virus hepatitis, dan yang paling berbahaya adalah virus Hepatitis B (VHB).

Sifat VHB memiliki tingkat patogenitas yang menyebabkan infeksi 100 kali lebih cepat penularannya daripada infeksi akibat HIV dan sebanyak 8-10 kali lebih infeksius daripada Virus Hepatitis lain seperti hepatitis A, C. Infeksi kronis VHB terjadi pada bayi yang baru lahir dari ibu penderita infeksi Hepatitis B sebanyak 90% dengan penanda serologi HbeAg positif, pada anak usia 1-5 tahun sebanyak 30% dan 6% pada anak diatas 5 tahun. Penderita Hepatitis B yang menunjukkan adanya infeksi menetap dan kronis sebanyak 15-25% akan terjadi keparahan seperti sirosis hati, kanker hati bahkan kematian (Jalaludin, 2018).

Virus Hepatitis B merupakan penyebab penyakit hepatitis yang dapat menjadi akut dan kronis serta akan menimbulkan keparahan sampai menjadi sirosis hati, karsinoma hepatoseluler bahkan kematian (Yucel and Akcael, 2018).

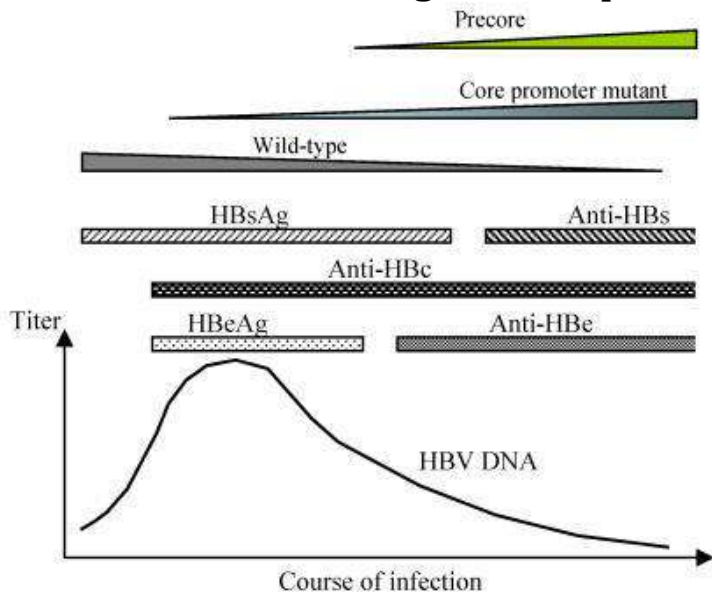
6.2 Struktur dan Morfologi Virus Hepatitis B

Virus Hepatitis B (VHB) memiliki struktur partikel yang disebut Dane dengan ukuran diameter 42nm. Klasifikasi VHB digolongkan ke dalam famili Hepadnaviridae dan genus *Orthohepadnavirus* yang menginfeksi sel hepatosit di hati. Struktur asam nukleat DNA dari VHB yaitu memiliki panjang 3200 nukleotida. Sel inang (host) dari VHB selain manusia juga dapat menginfeksi mamalia yaitu simpanse dan gorilla. Partikel VHB berupa virion atau disebut juga Dane yang mengandung

inti dan selubung permukaan, ukuran Dane memiliki diameter 42 nm (Jalaludin, 2018).

Partikel Dane memiliki beberapa bagian dengan sifat antigenitas masing-masing. Bagian terluar berupa selubung VHB disebut Hepatitis B Surface Antigen(HBsAg), struktur dalamnya terdiri dari Inti atau core yang disebut Hepatitis core Antigen (HbcAg), Hepatitis envelop Antigen (HbeAg), Partially double stranded DNA, DNA polymerase (DNA-p) (Handojo, 2004).

6.3 Struktur Penanda Serologi Virus Hepatitis B



Gambar 6.1. Fase pembentukan marker serologi infeksi HBV (Tong et al., 2005)

Komponen penanda serologi dari virus Hepatitis B yang merupakan petunjuk adanya infeksi VHB yaitu

1. Hepatitis B surface Antigen (HbsAg)
2. Antibodi anti-HBs (HbsAb)
3. Hepatitis B core Antigen (HbcAg)
4. Antibodi anti-HBc (HbcAb)
5. Hepatitis B envelop Antigen (HbeAg)
6. Antibodi anti-HBe (HbeAb)

7. HBV DNA Spesifik dan DNA Polimesae VHB

Tabel 6.1. Penanda pemeriksaan serologi Virus Hepatitis B (Rosida, 2016)

Penanda Serologi VHB	Definisi	Penggunaan
HBsAg	Hepatitis B Surface Antigen	Penanda dan pemantauan infeksi akut atau kronis VHB
HBeAg	Hepatitis B envelop Antigen	Berhubungan dengan nukleokapsid VHB dan penanda replikasi VHB aktif sehingga penderita beresiko menularkan VHB
HBcAg	Hepatitis B core Ag	Antigen inti VHB
Anti-HBs	HBsAb	Antibodi terhadap HbsAg, Penanda infeksi masa lampau atau Ab yang terbentuk pasca Vaksin Hepatitis B
Anti HBe	HBeAb	Penanda pada pasien infeksi VHB dengan resiko menularkan yang rendah
Anti-HBc	HBcAb	Penanda infeksi akut, telah sembuh maupun infeksi kronis, Jenis IgM terhadap HBcAg
IgM VHB	Imunoglobulin M VHB	Penanda infeksi akut VHB, hasil + setelah 4-6 bulan, Penanda windows period bila HbsAg masih negatif
VHB DNA	DNA Virus Hepatitis B	Pemeriksaan menggunakan PCR, penanda replikasi VHB stadium awal

Pasien hepatitis B juga mengandung antibodi yang bersirkulasi terhadap HBcAg (antigen inti hepatitis B), dan akan berkembang antibodi terhadap HBeAg dan HBsAg (anti-HBe dan anti-HBs) pada tahap infeksi selanjutnya. Tahap pertama ditandai dengan adanya antibodi anti-HBc golongan HBsAg, HBeAg, dan IgM, dan dapat berlangsung selama beberapa dekade. Pada tahap peralihan, pasien kehilangan HBeAg, mengembangkan antibodi anti-HBe, dan sering kali mengalami remisi klinis. Terakhir, hilangnya HBsAg dan peningkatan antibodi anti-HBs menunjukkan pemulihan dari infeksi. Dengan kloning genom HBV, menjadi jelas bahwa titer viremia (jumlah partikel virus menular) paling tinggi selama fase infeksi HBeAg, menurun beberapa log selama fase anti-HBe, dan menghilang pada fase anti-HBs (Tong et al., 2005).

6.4 Infeksi Virus Hepatitis B

World Health Organization (WHO) pada tahun 2015 melaporkan 1,34 juta kematian akibat infeksi virus hepatitis, terjadi infeksi VHB merupakan Kejadian Luar Biasa yang sama dengan kejadian akibat infeksi bakteri *Micobacterium tuberculosis* atau TB) dan efek kematiannya lebih tinggi daripada infeksi Human Imunodeficiency Virus. Tahun 2015 penderita yang diperkirakan terinfeksi VHB menjadi infeksi kronis sebesar 71 juta jiwa (Jalaludin, 2018).

Infeksi virus hepatitis B (HBV) merupakan masalah kesehatan global yang utama. Menurut statistik Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), 2 miliar orang di seluruh dunia terinfeksi HBV. Sekitar 350 juta orang saat ini menderita infeksi kronis, dengan 4 juta kasus klinis akut baru terjadi setiap tahunnya (Peng *et al.*, 2011).

6.4.1 Respon Imun Tubuh pada Infeksi Virus Hepatitis B

HbsAg merupakan penanda adanya infeksi Virus Hepatitis B (VHB) yang masuk menginfeksi organ hati. HbsAg dengan hasil positif akan muncul selama beberapa hari saat menimbulkan gejala klinis dari Hepatitis B yaitu sekitar 1-2 minggu, kemudian kadar HbsAg dalam tubuh akan menetap selama 6 bulan, jika kadar HbsAg

menetap lebih dari 6 bulan merupakan petunjuk adanya infeksi VHB kronis atau menahun. Hasil

HbsAg dapat juga positif pada penderita yang telah sembuh atau penderita sehat tetapi membawa Carrier VHB. Jumlah orang yang carrier bisa 10% pada orang dewasa dan 85-95% pada anak dengan waktu bisa sampai bertahun-tahun. Petanda adanya HbsAg yang menunjukkan Hepatitis kronis dan sebanyak 67% dapat berkembang menuju keparahan penyakit hati seperti Sirosis hati, kanker hati dan sampai kematian (Handojo, 2004).

6.4.2 Gejala Klinis Infeksi Virus Hepatitis B

Gejala klinis infeksi virus Hepatitis B yaitu kehilangan nafsu makan, rasa tidak nyaman pada perut, mual dan muntah, demam ringan, dan terkadang nyeri sendi serta bengkak di kuadran kanan atas. Setelah seminggu , gejala utama muncul seperti bagian putih mata tampak kuning, kulit seluruh tubuh tampak kuning, dan warna urin berubah menjadi teh hitam (Khumaedi *et al.*, 2017)

6.4.3 Penularan infeksi Virus Hepatitis B

Indonesia merupakan negara yang termasuk wilayah endemis dari VHB. Penularan VHB di negara berkembang yang paling banyak terjadi melalui penularan vertical ibu ke janin atau anaknya (perinatal). Hal ini merupakan penyumbang terbanyak adanya penyakit Hepatitis B yang akan berkembang menjadi kronis pada masa dewasa bahkan menyebabkan sirosis hati, kanker hati bahkan kematian. Selain melalui penularan vertical, VHB dapat menular secara horizontal yaitu dari penderita VHB dengan anggota keluarganya, sehingga akan menambah penderita infeksi Hepatitis B baik akut dan kronis

Jumlah penularan infeksi Virus Hepatitis B (VHB) sangat bervariasi dan beragam berdasarkan area geografisnya, penularan VHB sangat berhubungan dengan epidemiologi tranmisi penderita VHB sebelumnya. Prevalensi jumlah penderita VHB dari golongan ibu hamil yang dites di pusat kesehatan terkait sebanyak 1-5% (Jalaludin, 2018).

Penularan VHB terjadi dari 2 pola yaitu pola vertikal dan horizontal. Penularan secara vertikal terjadi dari ibu hamil dengan

HbsAg positif ke anak yang dikandungnya dan saat melahirkan yang akan mengakibatkan penularan perinatal. Penularan vertikal terjadi ketika VHB melakukan abarsi ke kulit bayi akibat proses persalinan atau melalui cairan ketuban yang tertelan bayinya. (Handojo, 2004).

Penularan vertikal dari ibu penderita Hepatitis B terhadap anaknya terdapat 3 mekanisme penularan yaitu penularan intranatal, penularan intra partum atau saat terjadinya persalinan dan penularan post partum yaitu saat bayi sudah keluar dan terjadi penularan saat dirawat dan diberikan ASI oleh ibu penderita Hepatitis B (Jalaludin, 2018)

Penularan secara horizontal infeksi VHB terjadi melalui luka di kulit atau cairan tubuh lain seperti air liur, ASI, cairan amnion, sperma air mata, cairan vagina dan keringat. Masa inkubasi untuk infeksi VHB yaitu untuk infeksi akut antara 6 minggu sampai 6 bulan dan infeksi kronis lebih dari 6 bulan. Seseorang yang telah terinfeksi VHB akan menunjukkan 3 kondisi yaitu hepatitis akut yaitu Penderita yang telah didiagnosa infeksi VHB dan telah mendapatkan pengobatan dan sembuh dan dibuktikan dengan pemeriksaan laboratorium yaitu sebesar 20% sembuh dan 80% mengalami gejala subklinis. Gejala yang kedua yaitu terjadi penyakit hepatitis B menahun atau kronis dan kondisi ketiga adalah kondisi sehat karena sistem imun dapat mengatasi infeksi VHB dan akan membentuk antibodi terhadap infeksi VHB (Handojo, 2004).

6.4.4 Diagnosa infeksi Virus Hepatitis B

Pengembangan pemeriksaan laboratorium yang dijadikan sebagai deteksi dini dan diagnostik VHB yang praktis, ekonomis serta akurat dapat menjadi potensi alternatif untuk menyaring orang yang terinfeksi VHB (Yucel and Akcael, 2018). Diagnosis hepatitis B didapatkan melalui pemeriksaan anamnesis riwayat, pemeriksaan laboratorium dan pemeriksaan fisik pasien. Pemeriksaan laboratorium dilakukan dengan uji kimia klinik, tes serologi dan pemeriksaan histopatologi. Salah satu uji skrining untuk awal diagnosis Hepatitis B yaitu tes HbsAg, HbsAg merupakan Antigen yang diproduksi pertama kali dan dapat dideteksi. HbsAg dibentuk pada saat virus Hepatitis B aktif melakukan replikasi di

dalam tubuh host dan sel hati dan sebagai penanda adanya infeksi VHB aktif.

HbsAg yang digunakan penanda skrining adanya infeksi Hepatitis B dan menunjukkan kondisi penderita mengalami infeksi akut. Pemeriksaan molekuler asam nukleat VHB dengan mendeteksi adanya DNA VHB di dalam darah menggunakan pemeriksaan *polymerase chain reaction* (PCR) dalam jangka waktu 1 bulan setelah infeksi dengan kadar rendah sampai 6 minggu. Pemeriksaan VHB sangat penting dilakukan terutama pada orang berisiko seperti penderita ODHA, infeksi virus Hepatitis C, Ibu hamil dan penderita Tuberculosis (Jalaludin, 2018).

Kehadiran HBsAg pada sampel serum atau plasma menunjukkan adanya infeksi hepatitis B aktif baik pada infeksi akut dan kronis. HBsAg akan muncul dalam rentang waktu 2 sampai 4 minggu sebelum adanya kenaikan kadar ALT abnormal serta 3 sampai 5 minggu sebelum timbul gejala atau menunjukkan adanya penyakit kuning diseluruh tubuh. HBsAg memiliki 4 sub tipe utama yaitu adw, ayw, adr dan ayr.

Pemeriksaan laboratorium terhadap VHB digunakan untuk menilai fungsi hati, pemeriksaan DL seperti jumlah trombosit, deteksi panel gangguan hati yaitu AST, ALT, Bilirubin, Globulin, Albumin, Kolinesterase dan lama waktu prothrombin). Deteksi laboratorium untuk mengetahui keaktifan replikasi VHB yaitu pemeriksaan HBsAg, DNA VHB dan HBeAg atau anti HBe. Pemeriksaan lanjutan pada pasien Hepatitis B kronis yang menunjukkan keparahan ditambah dengan tes karsinoma hati, USG dan pemeriksaan histopatologi (Jalaludin, 2018).

6.4.5 Macam-macam Pemeriksaan Imunoserologi HBsAg

Umumnya ada lima jenis tes untuk mendukung atau menegakkan diagnosis spesifik suatu virus menular yaitu Infeksi menunjukkan adanya virus menular, mendeteksi asam nukleat virus., tanda-tanda respon antibodi spesifik patogen dan mengenali antigen virus (Fusvita *et al.*, 2023).

Pemeriksaan imunoserologi untuk menentukan HbsAg dari sampel penderita memiliki beberapa metode. Tujuan dari pemeriksaan ini yaitu untuk menunjang diagnostik infeksi VHB,

untuk menentukan perjalanan penyakit Hepatitis B dan sebagai uji skrining penyaring orang sehat dengan orang yang terinfeksi VHB. Metode pemeriksaan imunoserologi VHB yaitu :

1. Reverse Passive Hemagglutination Test (RPHA)

Prinsip metode RPHA yaitu sel darah merah ayam kalkun yang dilapisi IgG marmut terhadap HbsAg akan direaksikan ke serum penderita. Jika pada serum penderita ada HbsAg setelah inkubasi akan terjadi reaksi Aglutinasi (Handojo, 2004). Reaksi Aglutinasi adalah reaksi yang terjadi dari reaksi antibodi larut dengan antigen yang tidak larut (berbentuk partikel) atau dapat menggunakan antigen yang larut tetapi diikat oleh Carrier atau pembawa seperti eritrosit, lateks atau charcoal (Krisnasari *et al.*, 2020).

2. Pemeriksaan *Enzyme Linked Immunosorbent* (ELISA)

Metode ELISA merupakan metode immunoassay untuk mendeteksi antigen dan antibodi yang bersifat kovalen yang ditambah dengan enzim dengan pengukuran menggunakan spektrofotometer atau ELISA reader (Abbas, 2012). Tujuan metode ELISA yaitu untuk menentukan atau mengukur tingkat aktivitas/respon ekspresi protein dan status respon imun dari reaksi/respon imun individu. Pemeriksaan ELISA selain digunakan untuk deteksi dini penyakit infeksi juga untuk penegakan diagnostik dan pengembangan penelitian dengan cara mengamati perubahan kompleks Ag-Ab (Santosa, 2020).

Dasar metode ELISA untuk penentuan HbsAg menggunakan metode *double antibody sandwich* ELISA. Prinsip metode *double antibody sandwich* ELISA yaitu bahan pemeriksaan yang mengandung antigen akan digabungkan dengan antibodi spesifik pertama yang terikat pada fase padat, kemudian terjadi penambahan antibodi spesifik kedua yang berlabel enzim dan terjadi penambahan substrat dari enzim tersebut. Aktivitas enzim yang erikat berbanding lurus dengan kadar antigen dalam bahan pemeriksaa. Metode *double antibody sandwich* ELISA dipakai pada jenis Antigen yang memiliki partikel besar sehingga dapat mengikat dua molekul antibodi (Handojo, 2003).

HbsAg yang terkandung di dalam sampel serum atau plasma orang terinfeksi VHB akan diikat oleh antibodi HbsAb yang dilapisi pada dinding sumuran di mikrotiter plate, kemudian bagian serum yang tidak berikatan akan hilang setelah pencucian, tahap berikutnya terjadi penambahan konjugat yang berupa antibodi anti HBs yang berlabel enzim dan akan berikatan pada epitop kedua dari HbsAg di dalam serum.

Jika bagian yang tidak terikat dibuang dan dicuci kemudian ditambahkan substrat kromogen, maka substrat akan dikatalisis oleh enzim, hasilnya akan menjadi produk yang mengubah kromogen dari bahan tidak berwarna menjadi bahan dengan warna. Reaksi pemeriksaan akan berhenti dengan ditamahnya reagen stop yang mengandung asam sulfat (H_2SO_4) dan intensitas warna yang terjadi berbanding lurus dengan adanya kehadiran HbsAg di dalam sampel yang dapat diukur menggunakan ELISA Reader.

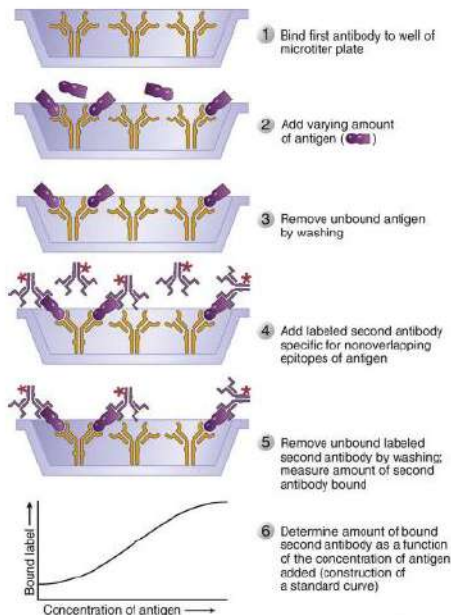
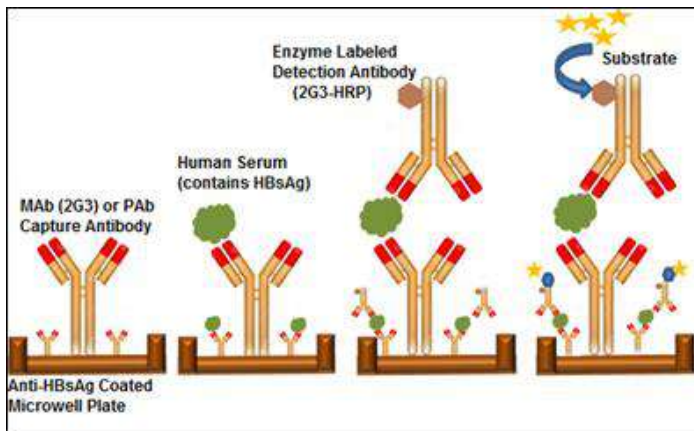


FIG. A.1 Sandwich enzyme-linked immunosorbent assay or radioimmunoassay. A fixed amount of one immobilized antibody is used to capture an antigen. The binding of a second, labeled antibody that recognizes a nonoverlapping determinant on

Gambar 6.2. Pemeriksaan ELISA metode sandwich (Abbas, 2022)

Kelebihan metode ELISA HbsAg yaitu dapat digunakan sebagai uji skrining dengan waktu relatif cepat dengan pengujian pada saat proses dapat menggunakan jumlah sampel yang besar secara cepat sehingga akan menurunkan biaya pemeriksaan (Peng *et al.*, 2011). Pemeriksaan ELISA HbsAG memiliki tingkat sensitivitas yang tinggi dan dapat digunakan salah satunya untuk skrining darah donor (Okorie *et al.*, 2020).

Pemeriksaan HBsAg metode ELISA menggunakan dua antibodi direct terpisah yang dirahakan menuju dua epitope yang berbeda. Antibody satu langsung diserap ke dinding plate sedangkan antibody yang lain akan dilabel dengan enzim Horseradish peroxidase (HRP). Sampel dan konjugat dimasukan ke dalam microplate dan diinkubasi pada suhu 37 derajat Celcius, untuk inkubasi kedua dilakukan dengan penambahan Kromogen yang akan mendeteksi Imuno-kompleks di permukaan fase padat (solid). Enzim akan menghasilkan intensitas warna yang sebanding dengan kadar antigen (HBsAg) dalam sampel dan selanjutnya dianalisis dan dibaca menggunakan ELISA reader (Kalim *et al.*, 2017).



Gambar 6.3. Struktur Antigen Sandwich ELISA untuk mendeteksi HbsAg (Yucel and Akcael, 2018)

Keterangan :

- I. Pelapisan anti-HBs Antibodi
- II. HBsAg dari control positif dan sampel

- III. Pelacak enzim : Anti-HBsAg Antibodi yang dikonjugasi dengan HRP
- IV. Aktivitas enzim HRP yang diukur dengan ditambahkannya buffer subtract tetramethyl benzidine (TMB)

3. Pemeriksaan HbsAg metode Imunokromatografi

Pemeriksaan ELISA HbsAg metode strip tes atau imunokromatografi adalah pemeriksaan cepat untuk mendeteksi secara kualitatif Antigen VHB di permukaan pada sampel serum atau plasma. Uji imunokromatografi menggunakan kombinasi antibodi monoklonal dan poliklonal untuk seleksi peningkatan kadar HbsAg dalam serum atau plasma.

Prinsip dasar penentuan HBs Antigen metode imunokromatografi yaitu adanya aliran lateral dengan prinsip tehnik antibodi sandwich ganda. Membran strip dilapisi antibodi anti-HbsAg di garis tes. Saat pengujian serum atau plasma akan bereaksi dengan partikel yang dilapisi antibodi anti HbsAg. Reaksi campuran akan bergerak ke atas membran kromatografi secara kapilaritas dan bereaksi dengan anti-HbsAg di membran yang akan menimbulkan warna jika hasil positif.

6.5 Pemeriksaan HBsAg Dengan Metode Elisa



Gambar 6.4. Contoh Kit Pemeriksaan ELISA Hepatitis B
(Sumber Dokumen Pribadi Reagen Wantai ELISA HbsAg)

6.5.1 Tujuan Pemeriksaan ELISA HbsAg

Tujuannya adalah untuk mendeteksi Hepatitis B Surface Antigen dari sampel serum atau plasma.

6.5.2 Alat dan Bahan ELISA HBsAg

1. Microwell strip: sumur mengandung antibodi monoklonal yang spesifik terhadap HBsAg (anti-HBs)
2. Kontrol Negatif : Bahan reagen berwarna kuning yang mengandung buffer dengan protein yg telah distabilkan. Sudah diuji hasil negatif HBsAg
3. Kontrol Positif (HBsAg) : Bahan reagen berwarna merah, mengandung HbsAg yang dilarutkan dalam buffer protein yang telah distabilkan
4. Tes elisa HRP-Conjugate Reagent HBsAg : Antibodi HRP-anti-HBs, bahan reagen berwarna merah. Bahan ini berisi enzim Horse Radish Peroksidase yang dikonjugasi dengan anti-HBs
5. Tes HBsAg elisa Stock Wash Buffer, bahan reagen yang berisi surfactant. Buffer harus dilakukan pengenceran, dengan perbandingan 1:20 yang diencerkan dengan aquades. Larutan buffer yang telah diencerkan memiliki stabilitas sampai 1 minggu di suhu ruang dan 2 minggu pada suhu 2-8°C.
6. Larutan Kromogen A: bahan reagen bening, berisi urea peroksida
7. Larutan Kromogen B : bahan reagen bening, berisi larutan TMB (tetrametyl benzidine)
8. Reagen Stop : bahan reagen tanpa warna, mengandung asam sulfat encer dengan kadar 0,5 M. Stabilitas reagen selama 4 minggu
9. Aquades atau air destilasi
10. EIA kit Microplate Washer
11. EIA kit Microplate Reader, pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 450nm atau dual panjang gelombang 450nm dan 630nm
(Wantai ELISA HBsAg, 2015)

6.5.3 Prinsip Pemeriksaan HbsAg Metode ELISA

Kit ELISA ini menggunakan prinsip Sandwich-ELISA, mikrotiter ELISA yang disediakan dalam kit yang dilapisi dengan antibodi HBsAg Manusia. Standar atau sampel ditambahkan ke sumur pelat mikro ELISA dan dikombinasikan dengan antibodi spesifik. Kemudian antibodi pendeteksi biotinilasi spesifik untuk konjugat HBsAg Manusia dan Avidin-Horseradish Peroxidase (HRP) ditambahkan berturut-turut ke setiap sumur pelat mikro dan diinkubasi. Komponen bebas tersapu. Larutan substrat ditambahkan ke setiap sumur. Hanya sumur yang mengandung HBsAg Manusia, antibodi pendeteksi biotinilasi, dan konjugat Avidin-HRP yang akan tampak berwarna biru. Reaksi enzim-substrat dihentikan dengan penambahan larutan penghenti dan warnanya menjadi kuning. Kepadatan optik (OD) diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang $450 \text{ nm} \pm 2 \text{ nm}$. Nilai OD sebanding dengan konsentrasi HBsAg Manusia. Anda dapat menghitung konsentrasi HBsAg Manusia dalam sampel dengan membandingkan OD sampel dengan kurva standar.

Kit tes ELISA HBsAg menggunakan teknologi sandwich ELISA antibodi di mana antibodi monoklonal spesifik untuk HBsAg dilapisi terlebih dahulu ke dalam strip mikrotiter polistiren. Sampel serum atau plasma dibubuhi konjugat HRP (horseradish peroxidase), suatu antibodi sekunder terhadap epitop HBsAg yang berbeda. Sepanjang masa inkubasi, setiap kompleks imun spesifik yang mungkin terbentuk (menunjukkan adanya HBsAg) ditangkap pada fase padat. Setelah dicuci, larutan kromogen yang mengandung tetramethylbenzidine (TMB) dan urea peroksida ditambahkan ke dalam sumur untuk menghilangkan protein serum dan konjugat HRP yang tidak terikat. Kromogen yang tidak berwarna kemudian dihidrolisis menjadi produk biru oleh konjugat HRP yang terikat dengan adanya kompleks imun sandwich antibodi-antigen-antibodi (HRP). Ketika reaksi dengan asam sulfat dihentikan, warna biru berubah menjadi kuning. Intensitas warna dapat diukur sehubungan dengan jumlah antigen yang ditangkap di dalam sumur dan jumlah sampel yang dikandungnya. Jika hasil HBsAg negatif, maka sumuran akan tetap tidak berwarna (Wantai ELISA HBsAg, 2015).

6.5.4 Prosedur Pemeriksaan ELISA

1. Disiapkan strip well ELISA HbsAg sesuai dengan jumlah sampel, Kontrol Positif (KP), Kontrol Negatif (KN) dan diletakan ke strip well holder
2. Ditambahkan 50 μ L sampel, KP, KN ke dalam masing-masing sumuran
3. Ditambahkan 50 μ L reagen HRP ke semua sumuran (sampel, KP, KN)
4. Strip Well ditutup menggunakan cover ELISA dan dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit ke dalam alat ELISA yang sebelumnya sudah penyetingan
5. Dilakukan perubahan kerja untuk proses washing dengan cara dimasukan sebanyak 350-400 μ L washing diluted buffer kemudian ketuk2 selama 30-60 detik untuk homogen atau dimasukan alat ELISA, setelah proses washing dibuang campuran di sumuran dan dibalik secara cepat untuk menghilangkan sisa, ulangi proses washing selama 5 kali.
6. Ditambahkan reagen Kromogen A sebanyak 50 μ L dan Kromogen B sebanyak 50 μ L ke semua sumuran, inkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit, sumuran ditutup dengan plester ELISA dan tidak boleh kena cahaya (catatan : sebelum inkubasi hasil setelah penambahan pada sampel akan berubah warna dari jernih ke biru dan setelah inkubasi untuk KP dan sampel yang positif akan berubah warna menjadi kuning)
7. Ditambahkan reagen stop ke masing-masing sumuran sebanyak 50 μ L, mix dan diketuk2 kembali selama 15 detik
8. Disiapkan ELISA reader dan dibaca hasil untuk mengetahui absorpsi kalorimeter dengan alat Humanreader di panjang gelombang 450 nm dan pada panjang gelombang 830 nm. Pembacaan dilakukan setelah 10 menit dari akhir reagen STOP.

(Wantai, 2015)

6.5.5 Hasil pemeriksaan Hepatitis B Metode ELISA

Interpretasi Hasil Pemeriksaan ELISA HBsAg

(hasil nilai Cut off (CO))

- 1. Hasil Negatif pada sampel (A/C.O. <1): nilai absorbansi sampel kurang dari nilai cut off = hal ini menunjukkan bahwa tidak ada HBsAg yang dapat dideteksi dari Pemeriksaan ELISA HBsAg atau Pasien kemungkinan tidak terinfeksi VHB atau sampel darah tidak mengandung VHB atau HBsAg sehingga darah dapat ditranfusi, jika pada kassus ini tidak ada penyakit lain yang ada
- 2. Hasil Positif (A/C.O.>1): nilai absorbansi sampel setara atau lebih besar dari nilai cut off reaktif atau positif, hal ini menandakan terdapat HBsAG mungkin telah terdeteksi dengan ELISA HBsAg
- 3. Borderline (A/C.O 0,9-1,1): nilai absorbandi antara 0,9-1,1. Hal ini menandakan untuk pemeriksaan sebaiknya dilakukan pengulangan secara duplikat untuk menunjukan hasil pastinya

Tabel 6.2. Perbandingan hasil pemeriksaan Hepatitis B metode ELISA (HBsAg) yang menunjukan nilai sensitivitas (Wantai, 2015)

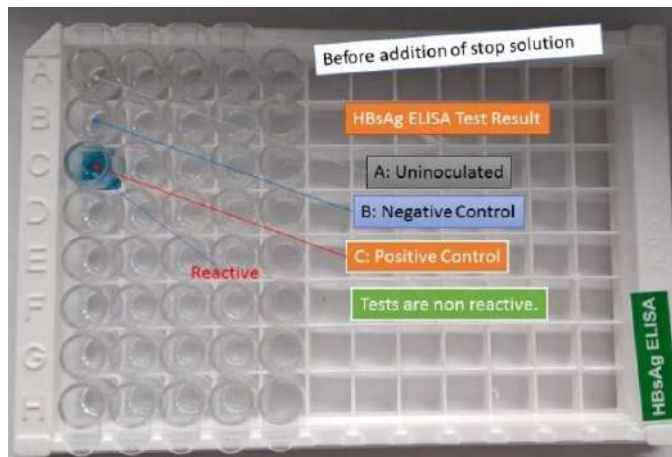
Tahap Hepatitis B	Jumlah sampel	Hasil negatif	Hasil Positif	Konfirmasi Positif	Sensitivitas
Akut	200	0	200	200	100%
Kronis	400	1	399	400	99,75%
Pemulihan	70	65	5	5	100%

Tabel 6.3. Perbandingan hasil pemeriksaan Hepatitis B metode ELISA (HBsAg) yang menunjukan nilai spesifisitas (Wantai, 2015)

Tahap Hepatitis B	Jumlah sampel	Hasil negatif	Hasil Positif	Konfirmasi Positif	Spesifisitas
Donor	2500	2444	56	53	99,88%
Pasien	300	273	27	26	99,64%



Gambar 6.5. Contoh Layar ELISA Reader HBsAg (Humanreader)
(Sumber Dokumen Pribadi)



Gambar 6.6. Contoh Mikroplate ELISA HbsAg yang terjadi sebelum penambahan larutan Stop
(Sumber : HBsAg ELISA: Introduction, Principle, Procedure, Result Interpretation (universe84a.com))

6.5.6 Keterangan Pemeriksaan HbsAg Metode ELISA

Hal-hal yang perlu diperhatikan

1. Untuk menghindari kontaminasi silang di mikroplate antar sampel dan konjugat, setelah tahap inkubasi tidak boleh

membuang isi sumuran tetapi tetap diletakan di mesin washing agar semua bahan teraspirasi dengan baik

2. Konsentrasi pengenceran washer diffuser yaitu 1:20 sebelum dilakukan tahapan ELISA
3. Sebelum melakukan pemeriksaan ELISA, terlebih dahulu reagen diletakan di suhu ruang (18-30°C) dan dilakukan homogenisasi di semua reagen. Penyimpanan dilakukan pada suhu 2-8°C)
4. beberapa bahan kimia dapat menyebabkan kerusakan terhadap reagen HRP seperti natrium hipoklorit, asam basa serta adanya debu, sehingga pada saat pemeriksaan diharapkan bersih dan terhindar dari semua bahan kimia tersebut
5. Hasil reaktif (Positif) pemeriksaan HbsAg metode ELISA harus dibandingkan dengan pemeriksaan lain dan dilanjutkan ke pemeriksaan molekuler.
6. Tidak terdapat hasil positif palsu dari pemeriksaan ELISA HbsAg pada sampel Rheumatoid Factors pada kadar diatas 2000 IU/ml
7. Antigen hepatitis B suraface kemungkinan pada individu yang terinfeksi hepatitis B awal belum terbentuk sehingga pemeriksaan menghasilkan hasil negatif

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K., Lichtman, A.H. and Pillai, S. 2022. Cellular and Molecular Immunology, Tenth Edition, Elsevier
- Fusvita, A., Ihsan, I.L., Nurfanny, Umar, A., et al., 2023, Mikrobiologi dan Virologi, Eureka Media Aksara, Purbalingga
- Handojo I. 2004. Imunoasay Terapan pada Beberapa Penyakit Infeksi. Airlangga University Press. Surabaya
- Handojo, 2003. Imunoasai Pada Penyakit Infeksi. Airlangga University Press. Surabaya
- Hutomo, C.S., Priastomo, Y., Koerniawan, D., Sihombing, K.P., Kristanto, S., Bintarawati, F., Sudra, R.I., Fitri, Y., Lazuania, T., Askur, Ulfiana, Q., Verawati, B., Rahmi, U., Badrus, A.R., Ermi, N., Jaya, I.F., Mahmud, A., Suwanto, T., Argaheni, N.B., 2021, "Ilmu Biomedik Dasar," Medan: Yayasan Kita Menulis
- Jalaludin, S., 2018. Transmisi Vertikal Virus Hepatitis B, UIN Makassar
- Kalim, M., Imran, M., Hussain, F., Khan, U., Habib, N., Iqbal, M. N., Ashraf, A, 2017, Detection of HBV and HCV by ICT and ELISA Method in Different Areas of District Malakand, PSM Microbiology, PSM Publisher, Vol 2 Issue 1, P: 5-8
- Khumaedi, a.I., Gani, R.A dan Hasan, I. 2017, Pencegahan Transmisi Vertikal Hepatitis B: Fokus pada Penggunaan Antivirus Antenatal, Jurnal Penyakit Dalam Indonesia, Vol 3(4): p.225
- Krisnasari, A.S., Amelia, R., Erawati, et al., 2020, Imunoserologi Teknologi Laboratorium Medik, EGC Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta
- Liu, C., Chen, T., Lin, J., Chen, H., Chen, J., Lin, S., Yang, B., Shang, H., and Ou, Q. 2014, Evaluation of the performance of four methods for detection of hepatitis B surface antigen and their application for testing 116,455 specimens, Journal of Virological Methods, Volume 196, , Pages 174-178
- Okorie, H.M., Ifenyi, O.E., Henry, O. H. C and Nchekwubedi, C. S., 2020. Comparative Study of Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Elisa) and Rapid Test Screening Methods on Hiv, Hbsag, Hcv and Syphilis among Voluntary Donors in Owerri, Nigeria, Journal of Clinical and Community Medicine, Vol 2 Issue 3

- Peng, J., Cheng, L., Yin, B., Guan Q., Liu, Y., Wu, S., Wang, B., Tang, N., Zhang, B., Wang, L., Yang, D., and Sun, Z, 2011, Development of an economic and efficient strategy to detect HBsAg: Application of “gray-zones” in ELISA and combined use of several detection assays, *Clinica Chimica Acta*, Volume 412, Pages 2046-205
- Priastomo, Y., Supyani, A`yun, Q., Arsi, W.L., Rini, I.A., Hutabarat, A.K.M., Argaheni, N.B., 2021. *Virologi*, Jakarta: yayasan Kita Menulis.
- Rosida, A, 2016, *Pemeriksaan Laboratorium Penyakit Hati*, Berkala Kedokteran, Vol. 12 No. , p 123-131
- Santosa, B., 2020, *Tehnik ELISA Metode ELISA untuk pengukuran Protein Metallothionein Pada Daun Padi Ir. Bagendit*, UNIMUS Press, Semarang
- Soedarto, 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*, Sagung Seto, Jakarta
- Tong, S., Kim, K.H., Chante, C., Wands, J., and Li, J., 2005, Hepatitis B Virus Antigen Variants, *International Journal of Medical Sciences*, Vol 2(1), p 2-7
- Wantai Kit Reagen ELISA HBsAg, 2015
- Yucel F. and Akcael E., 2018. Development of sandwich ELISA systems for the diagnosis of hepatitis B virus surface antigen and its antibody in human sera. *J Microbiol Exp.* 2018;6(2):77–82.
- HBsAg ELISA: Introduction, Principle, Procedure, Result Interpretation (universe84a.com)

BAB 7

PEMERIKSAAN ELISA UNTUK DETEKSI ANTIBODI

Oleh Fitri Rahmi Fadhilah

7.1 Pendahuluan

ELISA atau uji immunosorben berbasis enzim, adalah teknik immunoassay yang melibatkan reaksi antigen dan antibodi secara in vitro. ELISA adalah uji sensitif dan spesifik untuk mendeteksi dan mengukur antigen atau antibodi. Tes ELISA biasanya dilakukan di pelat microwell. Tes ELISA, atau enzim immunoassay (EIA), adalah tes skrining pertama yang umum digunakan untuk HIV karena dinilai mempunyai sensitivitas yang tinggi (Abbas AK et al., 2012). Aktivitas enzim digunakan sebagai “reporter” untuk menguji keberadaan/jumlah protein yang diinginkan. Reaksi enzimatik akan menghasilkan produk yang berwarna. Antibodi atau antigen (“imuno”) diadsorpsi (“sorben”) ke dalam sumur polistiren tempat melakukan pengujian. Satu antibodi sudah teradsorpsi dan ditambahkan ke dalam sumur dan antibodi kedua dengan enzim kita akan ditambahkan (Abbas AK et al., 2012).

Aplikasi ELISA :

1. Serologi (pengaturan klinis):

Antibodi spesifik untuk virus tertentu (misalnya CMV atau VZV) diukur untuk menentukan apakah seseorang “sero-positif”. Seseorang yang sero-positif telah terinfeksi atau divaksinasi virus tersebut.

2. Uji fungsional (kepentingan penelitian):

Konsentrasi sitokin (misalnya TNF α dan IFN γ) yang dihasilkan dalam kultur dapat diukur untuk menentukan kapasitas sel seseorang dalam merespons stimulan tertentu.

3. Penanda penyakit (klinis dan penelitian):

Molekul seperti protein C-reaktif biasanya diukur sebagai penanda peradangan pada pasien. Ini mungkin merupakan

prediktor atau penanda suatu penyakit tertentu, atau dapat digunakan untuk memantau respons terhadap pengobatan (Abbas AK et al., 2012).

7.2 Jenis-Jenis Pemeriksaan ELISA

Pemeriksaan ELISA pada prinsipnya dapat mendeteksi 2 tujuan :

1. Deteksi antibodi dengan menggunakan antigen yg diketahui
2. Deteksi antigen dengan menggunakan antibodi yg diketahui

Berikut jenis-jenis pemeriksaan ELISA yang sering digunakan di laboratorium:

1. ELISA pendeteksi antibodi
 - a. Indirect ELISA
 - b. Double antibody-sandwich ELISA
 - c. Indirect cellular ELISA
2. ELISA pendeteksi antigen
 - a. Direct competitive ELISA
 - b. Antibody sandwich ELISA
 - c. Direct cellular ELISA

7.2.1 ELISA Direct

ELISA secara langsung menggunakan metode pelabelan langsung pada antibodi itu sendiri. Pelat microwell dilapisi dengan sampel yang mengandung antigen target, dan pengikatan antibodi berlabel diukur berdasarkan titik akhir kolorimetri, chemiluminescent, atau fluoresen (AV, 2015), (Abul K.Abbas, Andrew H.Litchman, 2016).

7.2.2 ELISA Indirect

ELISA secara tidak langsung menggunakan antibodi primer yang tidak berlabel bersama dengan antibodi sekunder yang berlabel. Karena antibodi sekunder berlabel diarahkan terhadap semua antibodi dari spesies tertentu (misalnya mouse anti-IgG) antibodi ini dapat digunakan dengan berbagai macam antibodi primer (misalnya semua antibodi monoklonal tikus)(AV, 2015),(Abul K.Abbas, Andrew H.Litchman, 2016).

7.2.3 ELISA Sandwich

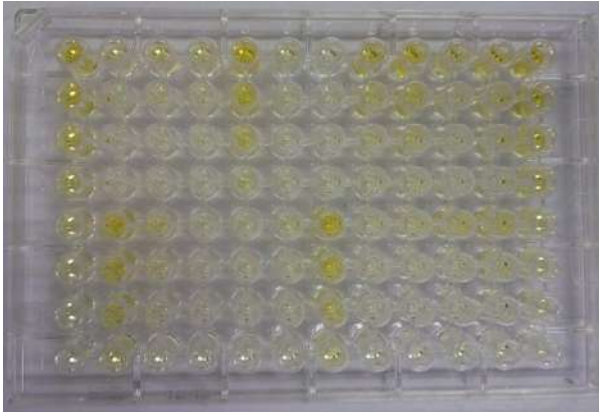
ELISA Sandwich pada prinsipnya menggunakan pelat yang dilapisi dengan antibodi penangkap. Sampel ditambahkan, dan setiap antigen yang ada akan berikatan dengan antibodi penangkap. Antibodi sekunder berlabel enzim kemudian ditambahkan, dan berikatan dengan antibodi pendeteksi. Substrat ditambahkan, dan diubah oleh enzim menjadi bentuk yang dapat dideteksi (AV, 2015), (Abul K. Abbas, Andrew H. Litchman, 2016).

7.2.4 ELISA Kompetitif

ELISA kompetitif pada prinsipnya menggunakan pelat yang dilapisi antibodi tak berlabel, kemudian diinkubasi bersama dengan antigen. Kompleks antibodi atau antigen yang terikat ini kemudian ditambahkan ke sumur yang dilapisi antigen. Pelat dicuci, antibodi yang tidak terikat dihilangkan. Antibodi sekunder, spesifik untuk antibodi primer ditambahkan. Antibodi kedua ini digabungkan dengan enzim. Substrat ditambahkan, dan enzim yang tersisa menghasilkan sinyal kromogenik atau fluoresen. Untuk ELISA kompetitif, semakin tinggi konsentrasi antigen asli, semakin lemah sinyal akhirnya (AV, 2015), (Abul K. Abbas, Andrew H. Litchman, 2016).

7.3 Analisis ELISA

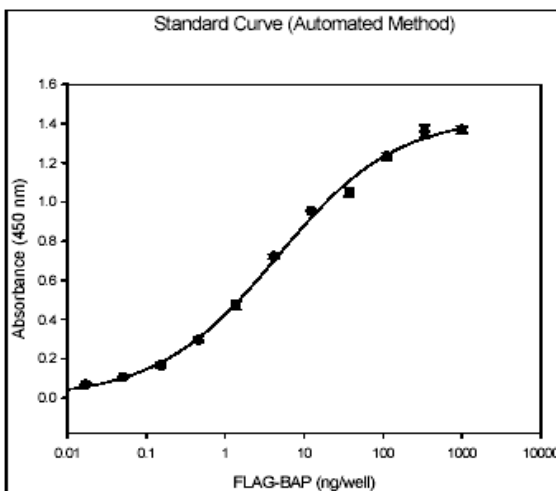
Pengujian ELISA dilakukan pada pelat 96 sumur untuk memberikan hasil luaran yang tinggi - tampilannya seperti ini. Setelah penambahan asam sulfat (H_2SO_4), reaksi dihentikan dan produk berubah warna menjadi kuning (Graham W. Burgess, 1995).



Gambar 7.1. Hasil Pemeriksaan ELISA
(Sumber: (Tabatabaei MS, 2022))

Penyerapan produk berwarna (kuning) sebanding dengan konsentrasi protein dalam sampel atau standar, dimana kuantitas dicapai dengan membandingkan dengan standar yang mengandung konsentrasi protein yang diketahui (Graham W. Burgess, 1995).

Pengenceran serial standar menciptakan “kurva standar seperti pada bentuk kurva di bawah ini. Pembacaan dilakukan dari bagian tengah (45° ke sumbu) (Graham W. Burgess, 1995).

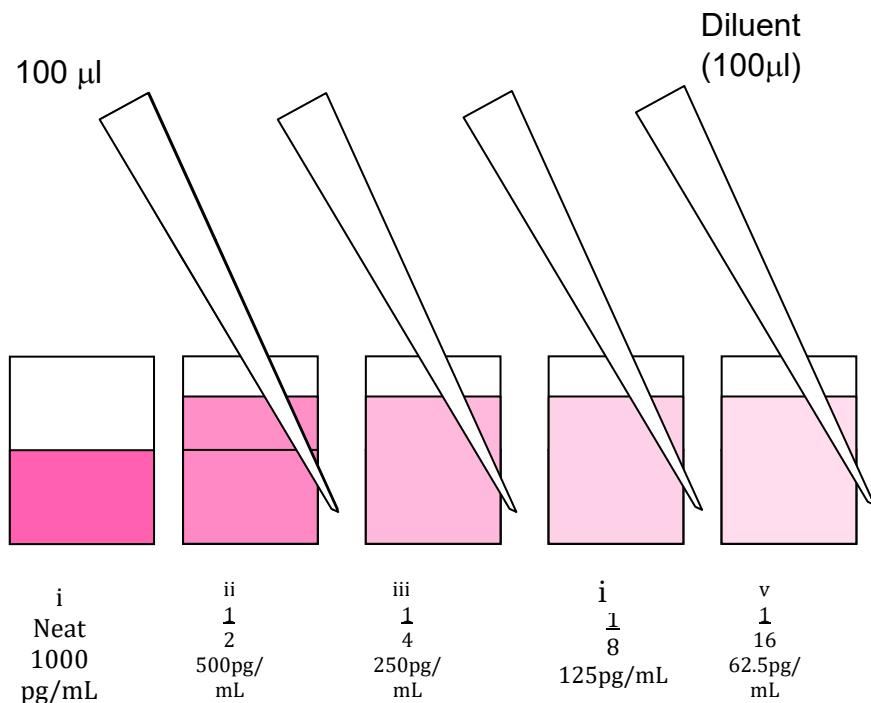


Gambar 7.2. Kurva Standar ELISA
(Sumber: (Tabatabaei MS, 2022))

Dalam contoh ini, nilai serapan 1,00 menandai konsentrasi 20 pg/mL dalam sampel. Nilai serapan 0,50 menandai 2 pg/mL dalam sampel (Tabatabaei MS, 2022).

1. Pengenceran Serial ELISA

Pengenceran serial digunakan untuk mencapai konsentrasi dalam kisaran yang dapat dibaca. Dalam contoh ini, larutan standar dengan konsentrasi 1000pg/mL akan dilakukan pengenceran serial 2 kali lipat. Masukkan 100ul pengencer ELISA ke dalam sumur ii, iii, iv & v, 200 ul standar dimasukkan ke dalam sumur pertama. Volume 100 ul dipindahkan sepanjang baris untuk membuat pengenceran serial.(Tabatabaei MS, 2022)



Gambar 7.3. Pengenceran Serial ELISA
(Sumber: (Tabatabaei MS, 2022))

Pelat ELISA kemudian dimasukkan ke alat ELISA Reader (pada panjang gelombang 450nm) dan dilakukan pengukuran titer.



Gambar 7.4. ELISA Reader
(Sumber:(AV, 2015))

2. Contoh Perhitungan Kadar Antibodi Pada Hasil Pengujian ELISA

					2.143
Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5	1.648
					1.095
					0.644
					0.398
Sample 6	Sample 7	Sample 8	Sample 9	Sample	0.245
					0.197
					0.094

Sample dilakukan pengenceran serial pada 10 wells:
 - 1/3
 - 1/9
 - 1/27
 - 1/81

Hasil pembacaan ELISA:

Und	50	24	73	90	1000
Und	17	Und	17	28	500
Und	Und	Und	Und	Und	250
Und	Und	Und	Und	Und	125
Und	822	506	86	144	62.5
Und	380	191	25	41	31.25
Und	168	70	Und	Und	15.63
Und	65	21	Und	Und	Blank

Perhitungan konsentrasi IFN- γ dari 10 sampel.

2 langkah pertama telah dilakukan untuk Anda (perhatikan dalam pengujian ini, pengenceran sampel pada sumur pertama adalah 1/3):

Contoh 1. Tidak terdeteksi

Sampel 2. $(50 \times 3) + (17 \times 9) = 152 \text{ pg/mL}$ (Graham W. Burgess, 1995).

7.4 Faktor-faktor yang mempengaruhi pemeriksaan ELISA

Negatif Palsu:

Merupakan hasil negatif bagi pasien yang benar-benar terinfeksi. Hal ini dapat disebabkan karena:

1. Mungkin tidak memiliki sistem kekebalan yang utuh, dan oleh karena itu mungkin tidak dapat merespons rangsangan antigenik
2. Imunodefisiensi bawaan atau didapat

3. Terapi immunosupresif setelah transplantasi organ atau kemoterapi kanker
4. Neonatus mungkin tidak selalu memberikan respons terhadap agen infeksi karena sistem kekebalan tubuh mereka belum sepenuhnya matang.
5. Untuk beberapa infeksi (misalnya penyakit legionnaires), titer antibodi mungkin baru meningkat beberapa bulan setelah infeksi akut (Arlita L. Antari, 2017),(Dosen Teknologi Laboratorium Medik Indonesia, 2020).

Positif Palsu:

Merupakan Hasil positif untuk pasien yang tidak terinfeksi oleh agen spesifik. Hal ini dapat disebabkan karena:

1. Produksi antibodi yang bereaksi silang.
Beberapa antigen yang berasosiasi dengan mikroorganisme berbeda berkerabat dekat dan inang dapat merespons dengan memproduksi antibodi tidak hanya terhadap organisme penyerang tetapi juga terhadap organisme yang secara antigenik berkerabat dekat.
2. Reaktivasi organisme laten akibat infeksi organisme lain
3. Menerima imunoglobulin intravena (Arlita L. Antari, 2017),(Dosen Teknologi Laboratorium Medik Indonesia, 2020).

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK et al. (2012) *Cellular and Molecular Immunology*. 7th editio.
- Abul K.Abbas, Andrew H.Litchman, S.P. (2016) *Imunologi Dasar Abbas : Fungsi dan Kelainan Sistem Imum*. Edisi Indo. Canada USA : Esevier.
- Arlita L. Antari (2017) *Imunologi Dasar*. Deepublish.
- AV, L. (2015) 'Direct ELISA', *Methods Mol Biol.*, 13(18), pp. 61–67. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2742-5_6.
- Dosen Teknologi Laboratorium Medik Indonesia (2020) *Imunoserologi Teknologi Laboratorium Medik*.
- Graham W. Burgess (1995) *Teknologi Elisa Dalam Diagnosis dan Penelitian*.
- Tabatabaei MS, A.M. (2022) 'Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)', *Methods Mol Biol.*, 25(08), pp. 115–134. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2376-3_10.

BAB 8

PEMERIKSAAN RUBELLA

Oleh Suyarta Efrida Pakpahan

8.1 Pendahuluan

Nama rubella berasal dari bahasa Latin yang berarti “little red atau sering disebut sebagai campak Jerman”. Rubella awalnya dianggap sebagai varian dari campak atau demam berdarah. Pada tahun 1940, epidemi infeksi rubella terjadi secara meluas di beberapa negara. Pada tahun 1941, seorang dokter mata Australia Norman Gregg, melaporkan terjadi katarak kongenital pada bayi yang baru lahir dari ibu yang terinfeksi virus rubella dan ini kasus pertama yang dipublikasikan sebagai sindrom rubella kongenital (CRS). Virus Rubella diisolasi pertama kali pada tahun 1962 oleh Paul D. Parkman, Thomas H. Weller dan Franklin A. Neva. Pada tahun 1969, vaksin rubella dibuat dan pertama kali dilisensikan, 2 tahun setelahnya dibuat vaksin gabungan campak, gondok, dan rubella (MMR) dilisensikan untuk digunakan di Amerika Serikat dan pada tahun 2005, vaksin kombinasi campak, gondok, rubella, dan varicella (MMRV) kembali dilisensikan (Lanzieri, 2021). Tahun berikutnya vaksin ini mulai masuk ke Indonesia.

8.2 Rubella

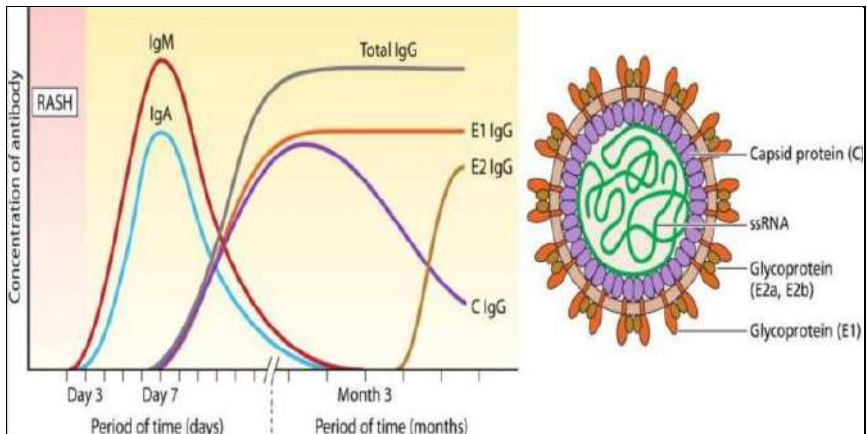
Rubella merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus rubella (Bennett, 2019). Virus Rubella merupakan virus RNA berselubung dengan tipe antigenik tunggal dan satu-satunya anggota virus rubigenus (Battisti, 2012; Atterwahmie, 2023) yang tidak bereaksi silang dengan anggota togaviridae lainnya. Virus ini mengandung RNA dengan 9762 nukleotida dan memiliki struktur sederhana berupa genom RNA beruntai tunggal yang dikelilingi oleh nukleokapsid ikosahedral, dilindungi oleh membran lipid bilayer (Butel, 2004; Atterwahmie, 2023). Virus ini berukuran diameter 50-70 nm terdiri dari tiga protein struktural yaitu; E1, E2 dan C. Protein nukleokapsid C ditemukan secara internal. Inti dikelilingi oleh

selubung lipoprotein satu lapis dengan tonjolan runcing yang mengandung dua glikoprotein, E1 dan E2 (Dimech, 2016).

Penyakit Rubella dikategorikan sebagai penyakit yang terdapat pada tingkat usia kanak-kanak. Apabila infeksi virus rubella terjadi pada wanita hamil dengan usia kehamilan sebelum 12 minggu (trimester pertama) akan berdampak fatal, dapat menyebabkan keguguran, bayi lahir meninggal, cacat lahir berat dan risiko tertinggi akan terkena CRS. CRS merupakan kumpulan gejala penyakit seperti cacat lahir, seperti tuli, kelainan mata (katarak, glaukoma, retinopati, mikrofthalmia), dan penyakit jantung bawaan (Lanzieri, 2021). Infeksi pada orang dewasa dikaitkan dengan terjadinya gangguan akut dan kronis. Gangguan akut yang sering terlihat adalah ensefalitis dan neuropati perifer dan penyakit ini biasanya sembuh dengan sendirinya (Abe 1997; Atterwahmie, 2023). Ensefalitis akut terlihat selama periode viremia atau fase erupsi klinis (Katow, 1997; Atterwahmie, 2023) dan terjadi pada 1/6000 sebagai penyakit demielinasi. Sekitar 80% pasien sembuh tanpa gejala dan sisanya akan mengalami ensefalitis sekunder, yang diperkirakan merupakan proses autoimun dan mungkin berhubungan dengan keterbelakangan mental. Gangguan kronis setelah infeksi virus rubella dapat menyebabkan CRS dan panencephalitis rubella progresif (Abe 1997; Atterwahmie, 2023).

Setelah vaksinasi rubella dilisensikan, kasus sindrom rubella kongenital menjadi jarang terjadi di negara-negara industri, karena imunisasi ini dilakukan secara besar-besaran pada anak-anak dan wanita usia reproduksi yang rentan dan yang belum mendapat imunisasi. Namun penyakit ini masih terjadi dikarenakan adanya kegagalan vaksin atau vaksinasi yang terlewat pada anak-anak antara usia 3-10 tahun. Di beberapa negara berkembang belum semua yang memasukkan vaksinasi rubella ke dalam program imunisasi nasional. Sero-positif antibodi rubella meningkat seiring bertambahnya usia dan paritas. Kasus ini dilaporkan lebih tinggi kejadian pada masyarakat pedesaan dibandingkan perkotaan dengan status sosial ekonomi rendah (Atterwahmie, 2023). Kejadian CRS di Indonesia masih berlangsung secara sporadik. Imunisasi Rubella dilakukan pada anak-anak bersamaan dalam imunisasi Mumps-Measles-Rubella (MMR). Pelaksanaan kampanye

imunisasi Measles-Rubella secara massal sudah terlaksana di wilayah pulau Jawa pada bulan Agustus-September tahun 2017 dan tahun 2018 yang bertujuan untuk memutus transmisi penularan virus campak dan rubella secara cepat, tanpa mempertimbangkan status imunisasi sebelumnya. Namun di beberapa wilayah belum terlaksana secara rutin dan belum masuk kedalam program pemerintah sebagai imunisasi wajib. Hal ini seiring dengan tingginya jumlah perempuan usia subur yang tidak diimunisasi.



Gambar 8.1. Plot respon imun normal terhadap infeksi virus rubella (kiri), struktur virus rubella termasuk tiga antigen imunogenik, yaitu dua antigen envelope (E1 dan E2) dan satu antigen kapsid (C), serta RNA untai tunggal/ssRNA (kanan) (Dimech, 2016).

8.3 Gambaran Klinis Rubella

Masa inkubasi penyakit rubella rata-rata 14 hari, dengan rentang 12 -23 hari. Gejalanya seringkali ringan, dan hingga 50% infeksi mungkin bersifat subklinis atau tidak terlihat (Lanzieri, 2021). Setelah masa inkubasi, tiga ciri khas muncul (terutama di pinna posterior, daerah oksipital, dan daerah leher), pada beberapa pasien terdapat demam, bintik-bintik merah berukuran 1-2 mm terdapat di sekujur tubuhnya dan terasa gatal (Bennett, 2019). Pada anak kecil, ruam biasanya merupakan gejala pertama muncul di wajah dan kemudian berkembang dari kepala hingga kaki dan dapat

berlangsung sekitar 3 hari dan kadang-kadang terasa gatal. Pada anak-anak yang usianya lebih banyak dan orang dewasa, mungkin terdapat gejala prodromal selama 1-5 hari dengan demam ringan, malaise, limfadenopati, dan gejala saluran pernapasan atas sebelum ada ruam. Limfadenopati kemungkinan dimulai seminggu sebelum ruam dan berlangsung beberapa minggu (Lanzieri, 2021). Ruam ini berupa makulopapula merah jambu dan tidak menyatu (Gambar 2). Limfadenopati teraba di leher posterior kiri, dan tidak ada hiperemia konjungtiva okular atau enanthem oral dan palatal yang diamati. Tidak ada kelainan pada bunyi napas atau bunyi jantung, dan tidak ditemukan hepatosplenomegali dan artralgia (nyeri sendi) sudah hilang (Kamada, 2021). Arthralgia dan arthritis jarang terjadi pada anak-anak dan pria dewasa, namun sering terjadi pada wanita dewasa. Gejala sendi cenderung terjadi pada waktu yang hampir bersamaan atau segera setelah ruam muncul dan dapat berlangsung hingga 1 bulan. Jari tangan, pergelangan tangan, dan lutut sering terkena. Arthritis kronis jarang terjadi. Gejala rubella lainnya termasuk konjungtivitis, testalgia, atau orkitis (Lanzieri, 2021). Namun gejala diatas sulit dibedakan pada kasus/ penyakit demam-ruam dan erupsi obat lainnya. Sehingga diperlukan pemeriksaan laboratorium untuk mendiagnosis secara pasti (The Japanese Association for Infectious Disease. 2017; Kamada, 2021).



Gambar 8.2. Pasien terinfeksi rubella

(<https://health.kompas.com/penyakit/image/2021/08/26/060000968/rubella?page=1>)

8.4 Patogenesis Rubella

Rubella merupakan penyakit menular yang dapat ditularkan melalui inhalasi atau droplet yang keluar dari sekresi pernapasan orang yang terinfeksi virus Rubella melalui batuk dan bersin. Rubella dapat ditularkan oleh orang-orang dengan kasus subklinis atau tanpa gejala (hingga 50% dari seluruh infeksi virus rubella). Juga dapat menularkan melalui penggunaan alat makan bersama, mata, hidung dan mulut setelah memegang alat/ benda yang terkontaminasi virus Rubella. Penyakit ini dapat menular selama tiga hari setelah ruam pertama kali muncul, namun virus dapat terus menyebar dari 7 hari sebelumnya, hingga 7 hari atau lebih setelah timbulnya ruam. Cara penularan infeksi rubella; setelah penularan melalui pernapasan, virus ini bereplikasi di nasofaring dan kelenjar getah bening. Pada wanita hamil, infeksi plasenta terjadi selama viremia dan dapat menyebabkan infeksi janin transplasenta. Kerusakan pada janin terjadi melalui rusaknya sel, serta terganggunya pembelahan sel. Infeksi pada janin sering kali mengakibatkan infeksi persisten yang biasanya menyebabkan gangguan pendengaran serta kelainan mata dan kardiovaskular (Lanzieri, 2021).

Apabila penyakit ini terjadi pada anak-anak, biasanya pulihnya lebih cepat tetapi kemungkinan terus mengeluarkan virus dalam jumlah besar dari sekresi tubuh (Atterwahmie, 2023). Rubella juga dapat diturunkan dari ibu hamil ke janinnya. Apabila ibu terinfeksi pada minggu awal trimester pertama, virus dapat masuk secara transplasenta dan menginfeksi janin yang sedang tumbuh sehingga menyebabkan terjadinya diseminasi virus di seluruh tubuh. Virus rubella dapat menyebabkan apoptosis pada sel, menghambat pembelahan sel-sel prekursor yang terlibat pada organogenesis. Reaksi autoimmune, deposit kompleks imun atau defek pada system imun selular menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan (Kuntorini dkk, 2016). Apabila ibu hamil terinfeksi virus rubella pada usia kehamilan 20 minggu maka kemungkinan infeksi ini dapat menyebar ke janin sehingga menyebabkan sindrom rubella kongenital dengan kelainan kongenital, seperti penyakit jantung, tuli, katarak, dan retinitis pigmentosa, rubella progresi ensefalitis total, diabetes mellitus, dan keterlambatan

perkembangan psikomotor. Oleh karena itu, vaksinasi rubella penting bagi pria dan wanita untuk mengendalikan epidemi, dan bagi wanita yang ingin hamil untuk memperoleh kekebalan agar terhindar dari infeksi virus Rubella sebelum kehamilan (The Japanese Association for Infectious Disease. 2017; Kamada, 2021). Beratnya kerusakan pada janin tergantung virulensi virus dan waktu saat janin terinfeksi. Apabila infeksi terjadi semakin awal maka kerusakan janin dapat semakin berat (Department of Health and Human Services, 2005). Infeksi rubella ada 2 strain yaitu strain vaksin rubella dan rubella *wild type*. Strain vaksin rubella jarang menularkan dibandingkan strain *wild type* sehingga tidak perlu menghindari kontak fisik. Namun orang yang terinfeksi strain *wild type* dapat menimbulkan gejala yang serius ketika terinfeksi pada saat dewasa (Kawashima, 2013) dan kemungkinan lebih tinggi dapat tertular dari droplet sehingga perlu penjagaan untuk tidak kontak dengan yang sedang terinfeksi rubella khususnya bagi yang tidak memiliki antibodi rubella (Kamada, 2021).

8.5 Pemeriksaan laboratorium Rubella

Spesimen yang umum digunakan untuk melakukan tes antibodi IgG dan IgM spesifik rubella adalah serum. Spesimen umum lainnya, usap tenggorokan, usap hidung, dan urin untuk diagnostik molekuler dan genotipe virus. Cairan serebrospinal dan katarak juga dapat digunakan untuk pemeriksaan. Tes yang dilakukan menggunakan tes serologis dapat menggunakan enzyme immunoassay (EIA) untuk penentuan IgG dan IgM dan deteksi virus/RNA virus. Uji RT-PCR *real-time* dapat menggunakan Taqman untuk mendeteksi RNA virus rubella dalam sampel klinis menggunakan spesimen usap tenggorokan dan hidung, urin, dan serum. Isolasi virus dari kultur sel dilakukan pada sampel yang positif rubella dan apabila ada suspek. Reaksi RT-PCR konvensional tambahan dilakukan pada sampel positif untuk menentukan genotipe virus (CDC report, 2012).

Pada bayi dengan dugaan CRS, usapan nasofaring atau urin harus diambil secepatnya setelah lahir. Jika dikonfirmasi positif CRS, bayi harus diskринing setiap bulan dari usia 3 bulan sampai diperoleh dua kali tes negatif berturut-turut untuk memastikan

virus sudah tidak ada, tes ini dapat dilakukan hingga usia bayi satu tahun (Lanzieri, 2021).

8.5.1 Pengambilan Spesimen

1. Spesimen Usap tenggorokan atau nasofaring

Bahan: kapas alkohol steril, 3 ml media transpor virus (VTM: PBS steril atau larutan isotonik), mengandung antibiotik (100 unit/ml penisilin, 100 µg/ml streptomisin) dan 2 % fetal bovine serum atau 0,5% gelatin dalam 15 ml tabung sentrifugasi polikarbonat atau polistiren, spuit 5 ml, aspirator plastik atau spuit 30 ml, kontainer pengiriman styrofoam .

Prosedur pengambilan;

- a. Usahkan pengambilan sampel sesegera mungkin 4-5 hari setelah munculnya ruam.
- b. Usap tenggorokan seperti mengambil kultur bakteri atau menggunakan cara lain yaitu mencuci hidung (*nasopharyngeal aspirate*) menggunakan jarum suntik yang dipasang pada tabung plastik kecil dan 3–5 ml *viral transport medium* (VTM). Setelah memasang VTM di hidung, aspirasi bahan sebanyak mungkin dan bilas tabung dengan VTM volume kecil (2ml) atau menggunakan alternatif lain, kapas lidi steril dapat digunakan untuk menyeka hidung dan tenggorokan. Tempatkan kapas lidi dalam tabung yang berisi 2-3 ml media transportasi. Virus ini sangat terikat pada sel, jadi dapat mencoba dengan mengusap tenggorokan dan saluran hidung untuk mengumpulkan sel epitel.
- c. Tata cara penyimpanan dan pengiriman spesimen; spesimen di simpan pada suhu 4°C dan sesegera mungkin di kirim menggunakan kontainer pengiriman *styrofoam/ coolbox*. Apabila tidak tersedia, maka spesimen usap hidung dan tenggorokan dapat dikeluarkan dari media transpor setelah didiamkan selama 1 jam (untuk elusi virus) lalu disentrifugasi pada 2500 xg selama 15 menit pada suhu 4°C dan pelet diresuspensi dalam 1ml media kultur jaringan. Jika memungkinkan, supernatan dapat disimpan dalam

tabung terpisah. Sampel harus dibekukan dan dikirim pada suhu -70°C (*dry es*). Jika sentrifugasi tidak tersedia, seluruh spesimen dapat dibekukan (sebaiknya pada suhu -70°C) dan dikirim dengan *dry es*.

2. Spesimen urin

- Sebaiknya menggunakan urin pagi. Urin ditampung di pot urin sebanyak 50–100 ml.
- Sentrifugasi pada kecepatan 2500 xg selama 15 menit pada suhu 4°C sampai terdapat sedimen. Suspensikan kembali sedimen dalam 2–3 ml VTM atau media kultur sel (DMEM, EMEM, RPMI plus antibiotik) dan dibekukan pada suhu -70°C dan dikirim menggunakan *dry es*. Jika tidak ada, bisa menggunakan *coolbox* suhu 4°C .

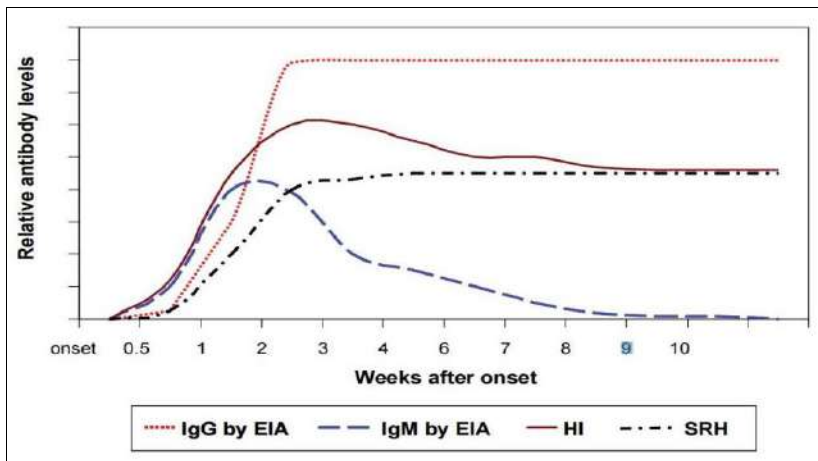
3. Spesimen serum

Pada pasien katarak atau glaukoma kongenital, serum yang didapat disimpan pada tabung steril pada suhu -20°C untuk uji serologi dan -80°C untuk pemeriksaan molekular. Saat operasi katarak, materi lensa di aspirasi dan disimpan dalam larutan ringer's laktat. Materi lensa disimpan dalam bentuk sedimen (140 ml/lens) kemudian diproses untuk ekstraksi RNA. Semua sampel dapat di simpan pada suhu -80°C sebelum dilakukan pemeriksaan (Kuntorini, 2016).

8.5.2 Diagnosis Rubella

Diagnosis rubella dapat ditegakkan dengan melakukan pemeriksaan adanya antibodi IgM rubella, mendeteksi adanya peningkatan konsentrasi IgG spesifik rubella dan melakukan pemeriksaan virus rubella (RV) pada sekret nasofaring dengan melakukan isolasi virus selanjutnya reverse transcription/polymerase chain reaction (RT-PCR) (Best & Enders, 2008). Untuk mendeteksi adanya peningkatan konsentrasi IgG yang signifikan, maka pemeriksaan serum pertama dilakukan sesegera mungkin setelah munculnya penyakit. Selanjutnya pemeriksaan serum ke dua dilakukan 5 hari setelah munculnya penyakit. IgM rubella dapat dideteksi 4-30 hari atau lebih, setelah munculnya penyakit. Perlu diketahui bahwa durasi respons IgM rubella bergantung pada sensitivitas pengujian yang digunakan (Tipples

dkk. 2004; Best & Enders, 2008). Untuk mengkonfirmasi ada atau tidaknya infeksi rubella perlu dilakukan uji serologi, karena infeksi lain (campak, parvovirus B19, enterovirus, adenovirus, human herpesvirus 6, demam berdarah dan streptokokus grup A & C) juga dapat muncul dengan ruam dan demam (Banatvala & Brown, 2004; Best & Enders, 2008). Perlu juga diingat bahwa IgM rubella dapat dideteksi setelah vaksinasi rubella, MR atau MMR (WHO, 2007). Selain metode EIA untuk pemeriksaan Rubella, aglutinasi lateks dan single radial haemolysis (SRH) juga dapat digunakan untuk tujuan konfirmasi.



Gambar 8.3. Respon antibodi spesifik Rubella pada infeksi primer (Best & Enders, 2008).

1. Uji Antibodi virus Rubella

Tes yang dikembangkan untuk mendiagnosis virus rubella adalah;

- a. Tes netralisasi virus (NT) dimana tes ini mampu mendeteksi antibodi terhadap E1 dan E2. Reaktivitas dalam pengujian ini masih dianggap sebagai indikator imunitas protektif yang paling dapat diandalkan. Namun metode ini cukup rumit karena menggunakan kultur sel, sensitivitasnya bervariasi, dan umumnya memperoleh titer yang rendah (Cradock-Watson, 1991; Dimech, 2016).

- b. Haemagglutination Inhibition (HAI) (Cradock-Watson, 1991; Dimech, 2016), prinsip dari tes ini bahwa hemagglutinin pada virus dapat mengaglutinasi eritrosit pada spesies hewan dan manusia yang tertripsinisasi. HAI dapat mendeteksi adanya IgG dan IgM dan kemungkinan bisa terjadi negatif palsu jika terdapat antibodi spesifik terhadap virus rubella seperti antibodi protein anti-C. Metode HAI juga sering terjadi variabilitas yang disebabkan oleh pemilihan reagen (perbedaan spesies dan kualitas eritrosit), potensi antigen virus, metodologi, termasuk suhu dan waktu inkubasi, pH reagen, dan sistem buffering yang berbeda, dan variabilitas antar pembaca (Kleeman, 1983; Dimech, 2016).
- c. Tes fiksasi komplemen (CFT), deteksi dengan penggunaan komplemen selama reaksi antibodi-antigen. Metode HAI dan CFT bersifat padat karya (Cradock-Watson, 1991; Dimech, 2016).
- d. Hemolisis radial (RH), mendeteksi kemampuan reaksi antibodi-antigen untuk melisis eritrosit yang diimobilisasi dalam agar, digunakan untuk mendeteksi secara semikuantifikasi antibodi virus rubella. Berbeda dengan HAI dan CFT, RH hanya mendeteksi IgG, khususnya subkelas 1 dan 3. Dengan menguji pengenceran serial standar secara paralel dengan sampel pasien dan membuat kurva standar berdasarkan pengukuran zona radius annular.
- e. *Enzyme immunoassay* (EIA), mendeteksi antibodi spesifik. EIA, dapat digunakan untuk mendeteksi subkelas antibodi atau antigen spesifik dengan cepat dibandingkan dengan metode HAI, CFT, dan pengujian lainnya. EIA IgG virus rubella di deteksi berdasarkan warna enzimatis. Pengujiannya sangat bervariasi dalam pilihan konjugat, substrat, dan antigen, serta waktu inkubasi dan suhu (Dimech, 2016). Pengujian ini umumnya menunjukkan linearitas yang baik dan memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang setara.

- f. Abbott IMx, salah satu alat analisa benchtop otomatis pertama yang dikembangkan untuk mendeteksi IgG virus rubella (Fiore, 1988; Dimech, 2016). Sejak itu, teknologi pelat mikrotiter secara bertahap digantikan oleh teknologi deteksi seperti imunofluoresensi (bioMérieux VIDAS, Abbott AxSYM), electrochemiluminescence (Roche Elecsys), dan chemiluminescence (Abbott Architect, DiaSorin Liaison, Siemens ADVIA Centaur). Namun teknologi pengujian modern ini, serangkaian konjugat, substrat, dan antigen yang berbeda masih digunakan. Contoh pemeriksaan uji IgG virus rubella Roche Elecsys, menggunakan beberapa protein rekombinan sebagai sumber antigen, tidak seperti kebanyakan pengujian lainnya menggunakan antigen asli yang berasal dari virus rubella yang diperoleh sebagai virus utuh yang dimurnikan, atau dimurnikan sebagian sebagai virus lisat (Dimech, 2016).

Prosedur Kerja Tes IgG

Serum diencerkan (1:100) diinkubasi selama 20 menit, tujuannya agar antibodi spesifik terhadap rubella dapat berikatan dengan *wells* yang dilapisi antigen. Setelah dilakukan pencucian terhadap antibodi yang tidak terikat dan konstituen terhadap serum lain. Selanjutnya IgG spesifik Rubella dideteksi menggunakan IgG *rabbit anti-human* yang terkonjugasi dengan *horseradish peroxidase*. Setelah inkubasi 20 menit, konjugat yang tidak terikat dihilangkan dengan pencucian, selanjutnya ditambahkan substrat enzim TMB inkubasi selama 10 menit. Jika muncul warna biru maka serum mengandung antibodi rubella. Selanjutnya tambahkan stop solution untuk menghentikan reaksi, akan terjadi perubahan warna menjadi kuning lalu lakukan pembacaan pada kontrol, standar, dan sampel diukur menggunakan *microplate reader* (Atterwahmie, 2023).

Interpretasi hasil: Negatif; bila titer antibodi IgG <10 IU/mL
Borderline; 10-14 IU/mL dan Positif; bila

≥ 15 IU/mL. Apabila hasil tes antibodi IgG-nya negatif maka antibodi IgM wajib diuji juga.

Prosedur Kerja Tes IgM

Serum uji diencerkan dengan pengencer sampel yang disediakan dalam kit. IgG *anti-human* ditambahkan ke dalam sampel pengencer untuk menghilangkan kemungkinan gangguan antigen IgG spesifik dan apabila ada rheumatoid faktor. Serum yang diencerkan (1:100) diinkubasi selama 20 menit agar antibodi spesifik terhadap Rubella dapat berikatan dengan wells yang dilapisi antigen. Setelah dicuci menggunakan *washing*, antibodi yang tidak terikat dan konstituen serum lain. Selanjutnya IgM spesifik Rubella dideteksi menggunakan IgM *rabbit anti-human* yang terkonjugasi dengan *horseradish peroxidase*. Setelah inkubasi 20 menit, konjugat yang tidak terikat dihilangkan dengan melakukan pencucian, dan ditambahkan substrat enzim TMB inkubasi selama 10 menit. Warna biru muncul jika terdapat antibodi terhadap rubella. Selanjutnya tambahkan stop solution untuk menghentikan reaksi, akan terjadi perubahan warna menjadi kuning lalu lakukan pembacaan pada kontrol, standar 10U/ml, dan sampel diukur menggunakan *microplate reader*. Hasilnya divalidasi menggunakan kurva kalibrasi yang diplot menggunakan OD standar yang tertera dalam kit insert (15 U/ml, 25 U/mL, 100 U/mL). Grafik digunakan untuk menentukan titer antibodi serum setara IgG dalam sampel (Atterwahmie, 2023).

Interpretasi hasil; Negatif; apabila titer sampel IgM < 10 U/ml dan Positif; apabila titer sampel ≥ 10 U/ml.

2. Polimerase Chain Reaction (PCR)

PCR merupakan teknik yang memiliki sensitivitas dan spesifitas tinggi, dapat mendeteksi kandungan virus Rubella sekalipun jumlahnya masih rendah. Virus Rubella di deteksi menggunakan metode PCR meliputi beberapa langkah;

- a. Isolasi dan identifikasi virus menggunakan spesimen usap tenggorokan, darah, cairan serebrospinal, urin dan cairan amnion yang diperoleh selama fase akut (beberapa hari

setelah munculnya ruam). Preparasi sampel; ekstraksi RNA virus Rubella dari spesimen usap tenggorokan, darah, cairan serebrospinal, urin dan cairan amnion, lalu ubah RNA menjadi DNA (cDNA) menggunakan enzim *reverse transcriptase*.

- b. Pemeriksaan *Reverse Transcription* dan *Nested Block-Based PCR* Total RNA di ekstraksi bisa menggunakan QIAMP viral RNA mini kit (Qiagen, West Sussex, UK). Nested PCR dilakukan menggunakan 2 set primer selain itu *Real-Time PCR* (Kuntorini dkk, 2016).
- c. Deteksi gen virus melalui tes PCR, PCR dapat mendeteksi virus Rubella pada saat awal untuk pencegahan dan pengendalian penyakit dengan cepat dengan cara mengamplifikasi cDNA menggunakan primer *forward* dan *reverse* untuk memperbanyak kandungan DNA virus Rubella. Produk amplifikasi dapat di visualisasi menggunakan teknik gel elektroforesis atau real time PCR. Untuk memastikan hasil yang dikeluarkan akurat dan terpercaya maka harus melakukan prosedur kualitas kontrol dan kualitas jaminan.
- d. Pemeriksaan *Real-Time PCR* untuk deteksi virus Rubella. Deteksi real time PCR untuk genom virus Rubella bisa dilakukan dengan ABI TaqMan universal PCR master mix dan reagents Taqman *real-time* PCR system. Reaksi dilakukan dengan tabung optikal dan dibuat 25 mikroliter universal master mix 0,833 mikroliter primer/probe mix dan 24,2 mikroliter cDNA sebagai template (total 50 mikroliter). Kondisi running; 50°C, 2 menit; 95°C, 10 menit, diikuti 40 *cycles* 15 detik 95°C dan 1 menit pada 60°C (Kuntorini dkk, 2016).

8.6 Pengobatan Rubella

Pengobatan khusus untuk rubella belum ada, namun menghilangkan gejala, membuat orang merasa nyaman dan mencegah komplikasi, beristirahat, mengkonsumsi makanan sehat, pemberian cairan untuk mencegah dehidrasi, obat penurun demam

dan nyeri dan juga pemberian antihistamin (mengatasi gejala gatal karena ruam) dan konsumsi suplemen vitamin A agar dapat membantu proses pemulihan (WHO, Rubella).

DAFTAR PUSTAKA

- Atterwahmie, Adamu & Idrisa, Audu & Bako, Babagana. (2023). Hero-prevalence of rubella-specific antibodies in pregnant women attending antenatal care in Maiduguri, north-eastern Nigeria. *World Journal of Advanced Research and Reviews*. 19. 1127-1139. 10.30574/wjarr.2023.19.3.1880.
- Bennett, J.E.; Dolin, R.; Blaser, M.J. (2019). Rubella Virus (German Measles). In Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 9th ed.; Elsevier Limited: Oxford, UK. ; pp. 2007–2012.
- Best JM, Enders G. Laboratory diagnosis of rubella and congenital rubella. (2007) In: Banatvala JE, Peckham C, eds. Rubella viruses. London, Elsevier :39-77.
- CDC. Prevention of Measles, Rubella, Congenital Rubella Syndrome, and Mumps, 2013: Summary Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR* 2013;62(RR04);1-34.
- Department of Health and Human Services. Center for Disease Control and Prevention Epidemiology and Prevention of Vaccine Preventable disease (2005).
- Dimech W, Grangeot-Keros L, Vauloup-Fellous C. Standardization of Assays That Detect Anti-Rubella Virus IgG Antibodies. *Clin Microbiol Rev*. (2016) Jan;29(1):163-74. doi: 10.1128/CMR.00045-15. PMID: 26607813; PMCID: PMC4771216.
- <https://health.kompas.com/penyakit/image/2021/08/26/060000968/rubella?page=1>
- https://www.kominfo.go.id/content/detail/13690/imunisasi-mr-lindungi-anak-indonesia-dari-kecacatan/0/artikel_gpr
- Kamada, M.; Kenzaka, T. A (2021). Case of Rubella Caused by Rubella Vaccination. *Vaccines*, 9, 1040. <https://doi.org/10.3390/vaccines9091040>
- Kawashima, H.; Shimura, M.; Nakajama, J. One Point Memo "Rubella". *Mod. Media* (2013). 59, 223–227. (In Japanese)
- Kuntorini M.W., Memed FK., Cesaria S. Hubungan Katarak dan Glaukoma Kongenital Dengan Strain Virus Rubella Di Pmn

- RSM Cicendo Periode (2016). DIPABLU PMN RS. Mata Cicendo Bandung. Nomor DIPA: 024.04.02.415491.
- Lanzieri T., MD; Penina Haber, MPH; Joseph P. Icenogle, PhD, MS; and Manisha Patel, MD, MS. The 14th edition of the “pink book chapter Rubella” was published August (2021). Vaccine-specific recommendations may be outdated. Refer to the Advisory Commite on Immunization Practices Vaccine Recommendations and Guidelines for the most updated vaccine-specific recommendations.
- Practice of Infectious Diseases, 9th ed.; Elsevier Limited: Oxford, UK. ; pp. 2007–2012.
- The Japanese Association for Infectious Disease. (2017). The Basics and Practice of Infectious Disease. Text Book. In Rubella, 2nd ed.; Nankodo: Tokyo, Japan ;Volume I, pp. 873–876.
- World Health Organization. Manual for the laboratory diagnosis of measles and rubella virus infection, 2nd ed. Geneva, 2007.
- World Health Organization. "Rubella." WHO.

BAB 9

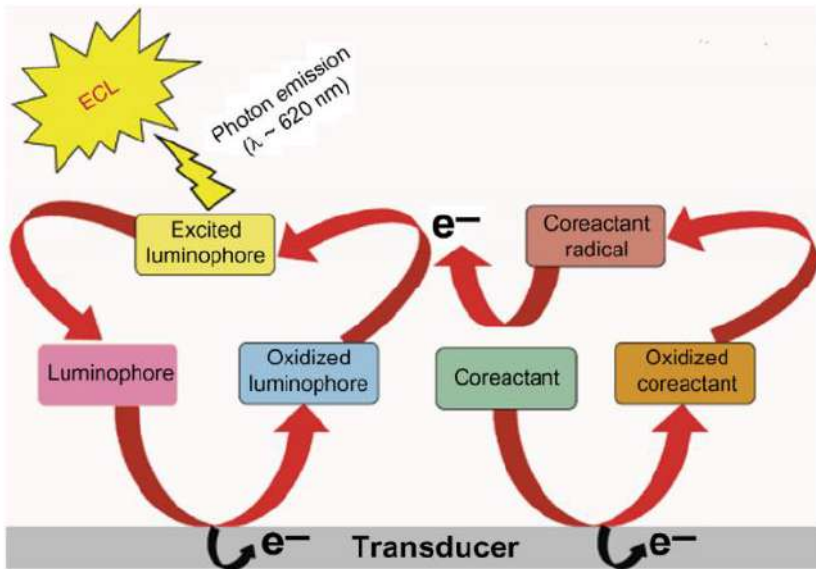
PEMERIKSAAN ECLIA UNTUK DETEKSI ANTIBODI IgE

Oleh Thaslifa

9.1 Pendahuluan

Immunoassay adalah tes yang mendeteksi keberadaan molekul tertentu dalam sampel menggunakan reaksi pengikatan antibodi-antigen. Antibodi hanya akan berikatan dengan struktur spesifik antigen tertentu dan tidak berikatan dengan yang lain, sehingga immunoassay menjadi sangat spesifik. Hal ini menjadikan antibodi sebagai reagen yang efektif untuk mendeteksi molekul target. Oleh karena itu, immunoassay merupakan alat fundamental untuk diagnostik klinis, penelitian ilmu hayati, dan laboratorium industri. Berbagai jenis immunoassay tersedia dalam berbagai format, dan dapat digunakan untuk menilai berbagai penyakit, melacak protein, dan mendeteksi kontaminasi lingkungan. Salah satu metode immunoassay yang sedang dikembangkan pada berbagai bidang adalah *electro chemiluminescence immunoassay* (ECLIA)(Wild, 2013).

Electrogenerated chemiluminescence immunoassay atau *Chemiluminescence* elektrogenerasi disebut juga *electrochemiluminescence* (ECLIA) adalah metode uji untuk mendeteksi keberadaan antigen atau antibody dengan memanfaatkan reaksi antara antigen dengan antibodi yang menghasilkan suatu cahaya. Metode ini bergantung pada reaksi biochemistry untuk mengukur konsentrasi suatu analit (zat/sampel yang akan diperiksa). Cahaya yang dihasilkan oleh karena transfer elektron yang berenergi tinggi pada permukaan elektroda (gambar 9.1).



Gambar 9.1. Skema ilustrasi proses emisi cahaya pada permukaan elektroda pada elektrokimialuminesensi
(Sumber; Zhu and Gao, 2019)

ECLIA merupakan pengujian yang menggabungkan teknik chemiluminescence dengan reaksi imunokimia untuk mendeteksi dan menganalisis antigen, antibodi, enzim, obat-obatan, dan lain sebagainya.

9.2 Immunoglobulin E

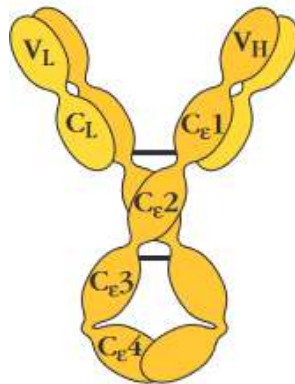
Imunoglobulin (Ig) atau antibodi adalah glikoprotein yang diproduksi oleh sel plasma. Sel B diinstruksikan oleh imunogen spesifik, misalnya protein bakteri, parasit, virus, jamur, makanan, obat-obatan, dan lain sebagainya untuk berdiferensiasi menjadi sel plasma. Sel plasma adalah sel pembuat protein yang berpartisipasi dalam respons imun humoral terhadap bakteri, virus, jamur, parasit, antigen seluler, bahan kimia, dan zat sintetis. Imunoglobulin membentuk sekitar 20% protein plasma. Imunogen atau antigen bereaksi dengan reseptor sel B (BCR) pada permukaan sel limfosit B. Sebuah sinyal dihasilkan yang mengarahkan aktivasi faktor

transkripsi untuk merangsang sintesis antibodi, yang sangat spesifik untuk imunogen yang merangsang sel B. Selanjutnya, satu klon sel B membuat imunoglobulin (spesifik)(Helbert and Nairn, 2017; Peter J. Delves *et al.*, 2017; Miller and Stevens, 2021).

Sistem imun akan mengingat antigen yang menimbulkan reaksi sebelumnya (memori) akibat perkembangan sel B memori. Ini adalah sel B perantara dan berdiferensiasi yang dapat dengan cepat menjadi sel plasma. Antibodi yang bersirkulasi mengenali antigen dalam cairan jaringan dan serum. Antibodi atau imunoglobulin memiliki dua rantai ringan dan dua rantai berat dalam susunan struktur ringan-berat-berat-ringan. Rantai berat berbeda antar kelas. Mereka mempunyai satu wilayah Fc yang memediasi fungsi biologis (misalnya, kapasitas pengikatan pada reseptor seluler) dan wilayah Fab yang berisi situs pengikatan antigen. Rantai tersebut dilipat menjadi wilayah yang disebut domain. Ada 4 atau 5 domain di rantai berat, bergantung pada kelasnya, dan dua domain di rantai ringan. Daerah hipervariabel (HRR) berisi situs pengikatan antigen. Ada tiga HRR di domain V dari setiap rantai ringan dan berat. Ini terlipat menjadi daerah yang menghasilkan dua situs pengikatan antigen di ujung masing-masing monomer. Semua antibodi menunjukkan satu atau lebih fungsi (bifungsional), termasuk aktivasi sistem komplemen, opsonisasi mikroba agar mudah difagositosis, pencegahan perlekatan mikroba pada permukaan mukosa, dan netralisasi racun dan virus(Helbert and Nairn, 2017; Peter J. Delves *et al.*, 2017; Miller and Stevens, 2021; Angel A. Justiz Vaillant *et al.*, 2023)

Para peneliti menemukan bahwa rangkaian wilayah konstan rantai berat terbagi dalam lima pola dasar. Lima barisan dasar ini diberi nama dengan huruf Yunani antara lain mu, delta, gamma, epsilon, dan alpha. Immunoglobulin E (IgE) adalah salah satu dari lima jenis imunoglobulin (IgM, IgG, IgD, IgA, dan IgE). Ini adalah produk akhir dari keluarga imunoglobulin yang akan ditemukan. IgE tidak hanya memiliki struktur kimia yang unik, tetapi juga memiliki banyak fungsi fisiologis penting seperti reaksi hipersensitivitas tipe I, infeksi parasit, proses autoimun, dan sangat diperlukan dalam patogenesis kelainan alergi.

Imunoglobulin E (IgE) adalah antibodi yang diproduksi oleh sistem kekebalan tubuh. IgE terutama disekresikan oleh selaput lendir saluran pernapasan dan pencernaan. IgE memiliki sifat tetap pada sel plasma dan basofil dan merupakan sel yang mampu melepaskan mediator kimia yang menyebabkan vasodilatasi seperti: Histamin, serotonin dan beberapa zat lain seperti triptase, prostaglandin, leucotriene dan eosinofil. Ini berpartisipasi dalam reaksi tipe hipersensitivitas langsung (reaksi alergi). Semua molekul imunoglobulin memiliki kerangka struktural umum yang ditandai dengan dua rantai polipeptida kecil yang identik (rantai ringan) dan dua rantai polipeptida besar yang identik (rantai berat). IgE imun berperan besar dalam reaksi alergi dan gangguan alergi seperti: rinitis alergi, asma, dan dermatitis atopik. Jika Anda memiliki alergi, sistem kekebalan tubuh Anda akan bereaksi berlebihan terhadap alergen tersebut dengan memproduksi antibodi yang disebut Imunoglobulin E (Sataloff *et al.*, 2016).



Gambar 9.2. Struktur Imunoglobulin E (IgE)
(Judith A. Owen *et al.*, 2013)

Antibodi ini berpindah ke sel dan melepaskan bahan kimia sehingga menyebabkan reaksi alergi. Reaksi ini biasanya menimbulkan gejala pada hidung, paru-paru, tenggorokan, atau pada kulit. Kelainan ini bermanifestasi sebagai reaksi hipersensitivitas tipe I, yang melibatkan IgE dan sel imun lainnya yang akhirnya menimbulkan gejala klinis. Berasal dari paparan awal

terhadap suatu antigen atau alergen, diterima dan diproses oleh sel dendritik atau makrofag yang memasukkan antigen tersebut ke dalam sel T. Adanya sitokin mediator interleukin (IL) utamanya IL-4 dan IL-13, sel T terinduksi dan berdiferensiasi menjadi sel T helper (Th2) yang mampu mempresentasikan antigen ke sel B. Sel B kemudian mengalami diferensiasi dan proliferasi menjadi sel plasma hingga akhirnya menghasilkan antibodi Immunoglobulin E yang mampu mengikat antigen pada bagian Fab dari antibodi tersebut. Ketika respon awal terhadap antigen terjadi, beberapa respons imun dapat terjadi, sehingga memastikan respons IgE yang lebih kuat. Setiap jenis Immunoglobulin E memiliki Fab yang spesifik untuk setiap jenis alergen. Itu sebabnya beberapa orang hanya alergi terhadap bulu kucing (mereka hanya memiliki antibodi IgE khusus untuk bulu kucing), sementara yang lain mempunyai reaksi alergi terhadap lebih dari satu alergen karena mereka mempunyai lebih banyak jenis antibodi IgE. Immunoglobulin E juga berperan penting dalam melindungi tubuh terhadap penyakit parasit, terutama yang disebabkan oleh cacing dan beberapa protozoa (Sataloff *et al.*, 2016; Helbert and Nairn, 2017; Peter J. Delves *et al.*, 2017; Spickett, 2020; Miller and Stevens, 2021).

Reaksi hipersensitivitas dikategorikan menjadi empat tipe berbeda antara lain Tipe I, II, III dan IV, masing-masing ditandai dengan fungsi biologis spesifik. Reaksi hipersensitivitas Tipe I adalah respon imun yang cepat, dimana sel mast dan basofil memainkan peran sentral melalui pelepasan mediator inflamasi. Pada reaksi hipersensitivitas tipe I, antigen berinteraksi dengan IgE yang berikatan dengan reseptornya pada permukaan sel mast. Telah dilaporkan bahwa reaksi hipersensitivitas berkorelasi dengan IgE ADAs untuk beberapa bioterapi, seperti tocilizumab, cetuximab, natalizumab dan muromonab. Selain itu, reaksi silang IgE yang sudah ada sebelumnya dengan cetuximab menyebabkan reaksi infus pada beberapa pasien (Wu *et al.*, 2013; Zhong *et al.*, 2020).

Pemantauan kadar IgE menggunakan teknologi konvensional, seperti radioimmunoassay (RIA), enzim-linked immunosorbent assay (ELISA), dan electrochemiluminescence (ECL) immunoassay telah dilakukan di banyak laboratorium klinis. RIA adalah alat diagnostik yang paling banyak digunakan yang

menggunakan antibodi anti-manusia berlabel radiologi untuk meningkatkan sensitivitas. Namun, metode RIA memiliki beberapa keterbatasan, termasuk kebutuhan akan instrumentasi yang mahal, bahan radioaktif yang berbahaya, dan kesulitan dalam pengujian kuantitatif, sehingga menghambat penerapannya secara luas dalam beberapa tahun terakhir. ELISA adalah alternatif RIA yang lebih aman dan mudah serta merupakan metode diagnostik klinis yang paling banyak digunakan untuk deteksi fluoresen atau kolorimetri berbagai biomarker. Metode ECL yang merupakan integrasi teknologi elektrokimia dan chemiluminescent, telah banyak digunakan di bidang klinis karena sensitivitas dan spesifisitasnya yang tinggi, kebisingan latar belakang yang rendah, rentang dinamis yang luas, dan stabilitas yang sangat baik. Namun, baik ELISA dan ECL memerlukan peralatan yang besar dan mahal, sehingga membatasi penerapannya dalam *point-of-care testing* (POCT)(Shankar *et al.*, 2008; Guo *et al.*, 2016; Han, Park and Ahn, 2021)

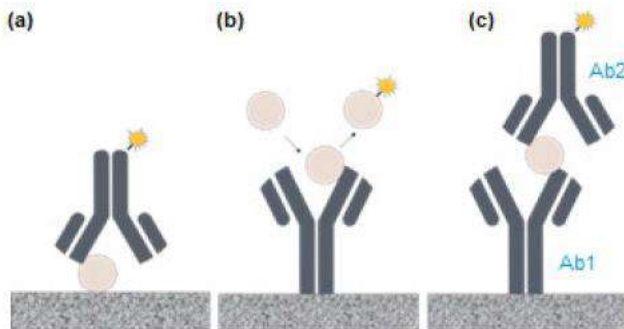
9.3 Electro Chemiluminescence Immunoassay (ECLIA)

9.3.1 Dasar Teori

Electro Chemiluminescence Immunoassay (ECLIA) memiliki karakteristik yang spesifik dibandingkan dengan immunoassay lainnya. ECLIA tidak menggunakan apapun radioisotop sehingga lebih baik bagi lingkungan, ECLIA memiliki latar belakang yang lebih rendah karena tidak ada optik eksitasi dari sumber cahaya atau sampel yang tersebar autofluoresensi, label ECLIA memiliki harga yang cukup rendah batas deteksi karena beberapa label seperti kompleks rutenium, dapat diregenerasi pada elektroda permukaan, sehingga memberikan sensitivitas yang sangat baik untuk mendeteksi analit pada konsentrasi yang sangat rendah. Pengukuran ECLIA hanya membutuhkan waktu beberapa detik bahkan milidetik karena proses fluoresensi yang cepat (Rahmawati *et al.*, 2021).

9.3.2 Prinsip uji

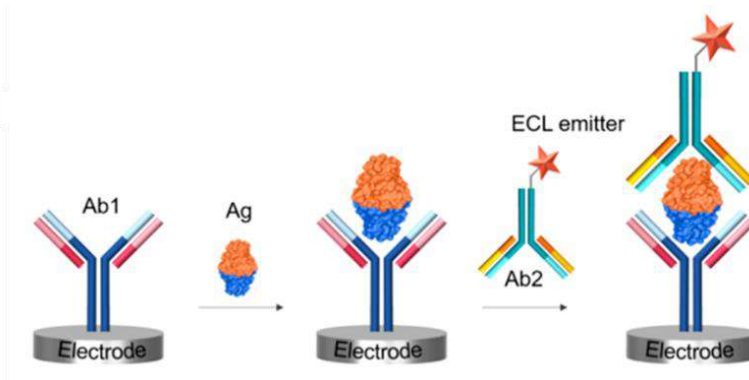
Immunoassay electrochemiluminescence (ECLIA) bergantung pada interaksi antara antibodi dan antigen terkait. ECLIA menggunakan reagen khusus, termasuk antibodi penangkap terhadap antigen, biasanya biomolekul, dan antibodi berlabel untuk mendeteksi interaksi. Antibodi penangkap diimobilisasi pada penyangga padat, seperti lempeng mikro atau manik magnet. Sebaliknya, antibodi berlabel terkonjugasi dengan penanda luminescent dan molekul yang aktif secara elektrokimia. Banyak penelitian telah membuktikan ECLIA lebih unggul dibandingkan radioimmunoassay konvensional (RIA) dan enzim immunosorbent assay (ELISA). ECLIA sangat sensitif dan tidak menggunakan radioisotop atau enzim dengan stabilitas terbatas. ECLIA menggunakan 3 prinsip interaksi dasar untuk mendeteksi analit secara langsung, kompetitif, dan sandwich (Sujatha Mahadevarao Premnath and Muhammad Zubair, 2024)



Gambar 9.3. Prinsip interaksi ECLIA a) Langsung/direct ; b) Kompetitif ; c) Sandwich (Sumber; Rahmawati *et al.*, 2021)

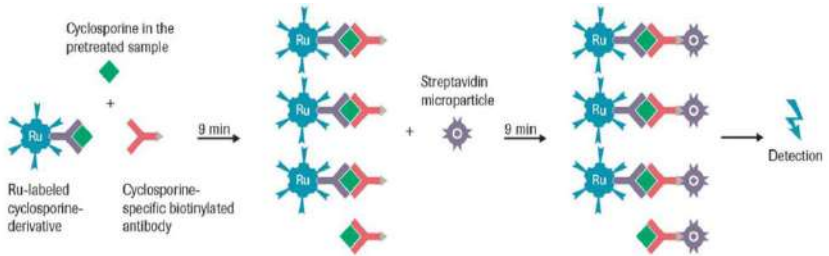
Ada dua format ECLIA yaitu berdasarkan ada tidaknya pemisahan yang dikelompokkan menjadi heterogen (pemisahan) dan homogen (bebas pemisahan). Pada ECLIA heterogen, terjadi imunoreaksi biasanya dilakukan pada permukaan elektroda dan diklasifikasikan menjadi sandwich, kompetitif, dan langsung. Sandwich heterogen ECLIA ditunjukkan pada gambar 9.4. Antibodi primer (Ab1) sebagai probe penangkap adalah pertama kali diimobilisasi pada permukaan elektroda kerja,

kemudian antigen target (Ag) diikat dengan probe penangkap dan selanjutnya diikat dengan probe ECL (berlabel reagen ECL Ab2) membentuk imunokompleks pada permukaan elektroda. Setelah kelebihan probe ECL dihilangkan dengan pencucian, pengukuran ECL dilakukan dengan adanya koreaktan. Dalam ECLIA kompetitif (gambar 9.5), ECL tetap berlabel reagen Ab dan analit Ag ada dalam sampel bersaing dengan pengikatan antibodi yang tidak bergerak pada permukaan elektroda. Intensitas ECL yang diperoleh berbanding terbalik dengan konsentrasinya antigen analit. Sandwich ECLIA digunakan untuk analit yang lebih besar seperti hormon(Qi and Zhang, 2020; Sujatha Mahadevarao Premnath and Muhammad Zubair, 2024).



Gambar 9.4. Sandwich heterogen ECLIA
(Sumber; Qi and Zhang, 2020)

Dalam ECLIA kompetitif (gambar 9.5), ECL tetap berlabel reagen Ab dan analit Ag ada dalam sampel bersaing dengan pengikatan antibodi yang tidak bergerak pada permukaan elektroda. Intensitas ECL yang diperoleh berbanding terbalik dengan konsentrasinya antigen analit(Qi and Zhang, 2020; Sujatha Mahadevarao Premnath and Muhammad Zubair, 2024).



Gambar 9.5. ECLIA kompetitif
(Sumber; Vogeser *et al.*, 2014)

Dalam sistem ECLIA direct (langsung), satu antibodi diimobilisasi pada elektroda. Elektroda dapat menangkap analit target (Ag) dalam spesimen dan bertindak sebagai probe elektrokimia. Ag bersaing dengan koreaktan untuk mendapatkan tempat pengikatan pada antibodi, peningkatan Ag terikat menurunkan sinyal ECL. Penurunan sinyal ECL yang dapat diukur berkorelasi langsung dengan konsentrasi Ag. Dalam tiga pendekatan tersebut, sandwich ECLIA telah digunakan secara luas karena kinerjanya yang sangat sensitivitas dan selektif(Qi and Zhang, 2020).

Pada ECLIA homogen, reaksi imun normal dilakukan dalam larutan, bukan pada permukaan benda kerja elektroda sementara pengukuran ECL dilakukan pada permukaan terbuka atau elektroda kerja yang dimodifikasi secara kimia dengan adanya koreaktan. Sebagian besar ECLIA homogen didasarkan pada perubahan sinyal yang berasal dari hambatan sterik, konformasi perubahan, dan perubahan koefisien difusi yang disebabkan oleh imunoreaksi dalam larutan. Format kompetitif di ECLIA homogen untuk penentuan target Ag, reagen Ag dan ECL target berlabel Ag berikatan secara kompetitif dengan Ab tetap menghasilkan penurunan intensitas ECL. ECLIA homogen itu sederhana dan mudah diotomatisasi karena proses nonseparasi. Namun, masalah yang paling menantang dalam pengujian homogen adalah efek yang terkadang merugikan dari matriks yang kompleks(Qi and Zhang, 2020).

9.3.3 Sampel uji

Tes immunoassay elektrokimia adalah dilakukan pada bercak darah kering untuk mendeteksi antibodi. Sampel darah dikumpulkan dalam tabung vacutaine. Sampel yang digunakan dapat berupa serum atau plasma yang dapat diperoleh dengan cara sentrifugasi. Antikoagulan yang dapat digunakan antara lain natrium sitrat, *etilen diamin tetra acid* (EDTA), dan heparin. Namun, penggunaan antikoagulan perlu diperhatikan karena jika tidak seimbang maka akan mempengaruhi komponen darah. Penggunaan EDTA dalam konsentrasi tinggi maka akan bersifat hipertonik dibandingkan dengan darah merah. Oleh karena itu, EDTA dapat menyusutkan sel darah merah pada pengumpulan sampel darah dalam volume kecil (G.Nivedhita and M.P.Brundha, 2020).

9.3.4. Label uji

Label ECLIA adalah senyawa kimia yang dapat terkonjugasi dengan antibodi atau antigen. Label yang digunakan pada ECLIA adalah spesies yang memancarkan cahaya yang disebut luminofor. Sebagian besar luminofor yang dilaporkan untuk ECL memiliki kelarutan dalam air yang rendah dan menemui hambatan ketika memperkenalkan situs pengikatan tanpa mempengaruhi fungsi dan sifat mereka. Hal ini membatasi luminofor sebagai kandidat yang mungkin digunakan sebagai label di ECLIA. Sejauh ini, $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ merupakan satu-satunya luminofor yang digunakan dalam ECLIA komersial. Luminofor dapat diklasifikasikan menjadi tiga kategori, yaitu sistem anorganik dan organik serta material nano. Sistem anorganik terutama menggunakan kompleks organologam sebagai bahannya. Bagian ini membahas luminofor yang telah dilaporkan sebagai label di ECLIA (Chinnadayya *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2020; Rahmawati *et al.*, 2021)

9.3.5 Kelebihan

Sistem ECL memiliki beberapa keunggulan. Luminofor yang digunakan dalam ECL adalah zat kecil dan stabil yang dapat memberi label pada berbagai molekul dan hapten tanpa reaksi silang. Interferensi latar belakang minimal pada ECL karena

luminofor mempunyai kapasitas bawaan untuk memancarkan cahaya dan tidak diperlukan sumber cahaya tambahan. ECL sangat sensitif karena siklus eksitasi ganda dan menawarkan jangkauan deteksi yang luas dengan batas deteksi yang lebih rendah yaitu 200 fmol/L. ECL juga memperlihatkan peningkatan stabilitas reagen. ECL rentan terhadap kebocoran cahaya dan pendaran latar belakang dari reagen. Sensitivitas tinggi yang ditawarkan oleh ECL memerlukan reagen dan pelarut murni. Selain itu, emisi cahaya berintensitas tinggi dapat menyebabkan penumpukan pulsa, sehingga menyebabkan perkiraan emisi cahaya terlalu rendah(Sujatha Mahadevarao Premnath and Muhammad Zubair, 2024)

9.3.6 Kekurangan

Meskipun tes ini sangat sensitif dan bermanfaat, namun ada beberapa kelemahan yang dimilikinya. Peroksidisulfat larutan dengan oksigen terlarut menyulitkan antibodi untuk mengikat rutenium. Secara relatif jumlahnya yang sedikit membuat sulit untuk dipisahkan. Konsentrasi zat yang tinggi mengurangi sinyal kemampuan karena lebih sedikit enzim yang diberi label dengan antigen dan sisanya mengendap di dasar plat. Ketika tidak ada katalisis substrat, maka tidak ada sinyal yang diproduksi. Rutenium tingkat tinggi dan zat lainnya di beberapa lokasi cenderung menyebabkan hilangnya aktivitas biologis molekul. Immunoassay sangat bergantung pada aktivitas antara analit dan antibodi alami(G.Nivedhita and M.P.Brundha, 2020)

DAFTAR PUSTAKA

- Angel A. Justiz Vaillant *et al.* (2023) *Immunoglobulin*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Chinnadayala, S.R. *et al.* (2019) 'Recent advances in microfluidic paper-based electrochemiluminescence analytical devices for point-of-care testing applications', *Biosensors and Bioelectronics*, 126, pp. 68–81. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.10.038>.
- G.Nivedhita and M.P.Brundha (2020) 'Eclia Test- Review', *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, 14(4), pp. 5067–5073.
- Guo, Z. *et al.* (2016) 'In-electrode vs. on-electrode: ultrasensitive Faraday cage-type electrochemiluminescence immunoassay', *Chemical Communications*, 52(25), pp. 4621–4624. Available at: <https://doi.org/10.1039/C6CC00787B>.
- Han, H., Park, J. and Ahn, J. (2021) 'Immunoglobulin E Detection Method Based on Cascade Enzymatic Reaction Utilizing Portable Personal Glucose Meter', *Sensors*, 21(19), p. 6396. Available at: <https://doi.org/10.3390/s21196396>.
- Helbert, M. and Nairn, R. (2017) *Immunology for medical students*. Third edition. Philadelphia, PA: Elsevier.
- Judith A. Owen *et al.* (2013) *Kuby Immunology*. Seventh edition. New York: Susan Winslow.
- Miller, L.E. and Stevens, C.D. (2021) *Clinical immunology and serology: a laboratory perspective*. Fifth edition. Philadelphia, PA: F.A. Davis Company.
- Peter J. Delves *et al.* (2017) *Roitt's Essential Immunology*. Thirteenth edition. UK: Wiley.
- Qi, H. and Zhang, C. (2020) 'Electrogenerated Chemiluminescence Biosensing', *Analytical Chemistry*, 92(1), pp. 524–534. Available at: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b03425>.
- Rahmawati, I. *et al.* (2021) 'Electrogenerated Chemiluminescence for Immunoassay Applications', *Indonesian Journal of Chemistry*, 21(6), p. 1599. Available at: <https://doi.org/10.22146/ijc.64596>.

- Sataloff, R.T. *et al.* (eds) (2016) *Sataloff's comprehensive textbook of otolaryngology head and neck surgery*. First edition. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers.
- Shankar, G. *et al.* (2008) 'Recommendations for the validation of immunoassays used for detection of host antibodies against biotechnology products', *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 48(5), pp. 1267–1281. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2008.09.020>.
- Spickett, G. (2020) *Oxford handbook of clinical immunology and allergy*. Fourth edition. Oxford, United Kingdom ; New York, NY: Oxford University Press (Oxford handbooks).
- Sujatha Mahadevarao Premnath and Muhammad Zubair (2024) *Electrochemiluminescence Method*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Vogeser, M. *et al.* (2014) 'Multicenter Analytical Evaluation of the Automated Electrochemiluminescence Immunoassay for Cyclosporine', *Therapeutic Drug Monitoring*, 36(5), pp. 640–650. Available at: <https://doi.org/10.1097/FTD.0000000000000068>.
- Wild, D. (2013) *The immunoassay handbook: theory and applications of ligand binding, ELISA, and related techniques*. 4th ed. Oxford: Elsevier.
- Wu, Y. *et al.* (2013) 'An electrochemiluminescence (ECL)-based assay for the specific detection of anti-drug antibodies of the IgE isotype', *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 86, pp. 73–81. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2013.06.005>.
- Zhao, C. *et al.* (2020) 'A simple and convenient electrochemiluminescence immunoassay by using gold nanoparticles as both label and co-reactant', *Bioelectrochemistry*, 135, p. 107585. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2020.107585>.
- Zhong, Z.D. *et al.* (2020) 'Development and Utility of an ELISA Method for Sensitive and Specific Detection of IgE Antidrug Antibodies', *The AAPS Journal*, 22(2), p. 36. Available at: <https://doi.org/10.1208/s12248-020-0413-z>.

Zhu, X. and Gao, T. (2019) 'Spectrometry', in *Nano-Inspired Biosensors for Protein Assay with Clinical Applications*. Elsevier, pp. 237–264. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815053-5.00010-6>.

BAB 10

METODE IMBI UNTUK DETEKSI ANTIBODI IGM SALMONELLA TYPHI

09

Oleh Meri

10.1 Pendahuluan

Demam tifoid didiagnosis berdasarkan tanda klinis, gejala, dan melalui berbagai pemeriksaan laboratorium. Diagnosis demam tifoid berdasarkan tanda dan gejala klinis seringkali tidak memadai. Biasanya, gejalanya tidak spesifik dan mungkin mirip dengan penyakit demam akut lainnya. Hal ini merupakan indikasi perlunya pemeriksaan laboratorium untuk memastikan diagnosis klinis demam tifoid (Bundalian, Valenzuela and Tiongco, 2019).

Saat ini terdapat beberapa strategi untuk mendiagnosis demam tifoid di laboratorium. Diagnosis pasti atau *gold standard* untuk demam tifoid dapat dicapai dengan mengisolasi bakteri *S. Typhi* dari berbagai spesimen seperti darah, sumsum tulang, dan cairan tubuh lainnya di laboratorium. Namun, di negara-negara berkembang dengan teknisi terlatih dan fasilitas laboratorium yang terbatas, metode ini dianggap masih tidak praktis, sehingga diperlukan strategi dengan menggunakan metode lain. Diagnosis demam tifoid dengan kultur darah konvensional ini merupakan tantangan dan memakan waktu karena memerlukan waktu sekitar 24-48 jam (Veeraraghavan, 2018), mahal dan rumit (Pranata *et al.*, 2022).

Pemeriksaan laboratorium untuk kasus demam tifoid terutama dalam immunoassay memiliki bermacam-macam metode, seperti metode aglutinasi (WIDAL), metode Typhidot (IgG/IgM); metode imunokromatografi IgM dip-stik, metode Inhibition Magnetic Binding Immunoassay (IMBI) TUBEX TF IgM, dan ELISA IgG/IgM (Bundalian, Valenzuela and Tiongco, 2019).

10.2 TUBEX TF (IgM-Anti Salmonella)

TUBEX® TF (Inhibition Magnetic Binding Immunoassay atau IMBI) adalah metode semi-kuantitatif in-vitro tes cepat diagnostik untuk mendeteksi *S. Typhi* akut. TUBEX® TF didasarkan pada deteksi antibodi anti-O9 *S. Typhi* IgM dalam serum pasien. Penghambatan dari pengikatan antara antibodi monoklonal anti-O9 IgM terkonjugasi menjadi partikel lateks berwarna dan antigen *S. Typhi* lipopolysaccharide (LPS) O9 terlapisi menjadi lateks magnetik partikel diukur. Reagen lateks dan magnet manik-manik (partikel biru dan coklat) dicampur secara khusus reaksi yang dirancang dengan baik selama 2 menit bersama dengan sampel atau kontrol uji, dan manik-manik magnetik dipisahkan dari larutan pada magnet. Warna yang dihasilkan supernatan dicatat dan dibandingkan dengan standar warna (skala warna). Skor TUBEX® TF antara 0 (negatif), dan 10 (positif) ditetapkan, dan skor TUBEX® TF dari 4–10 positif demam tifoid, sedangkan TUBEX® TF skor dalam kisaran di atas 2 dan di bawah 4 tidak meyakinkan, setelah itu tes harus diulang (Bundalian, Valenzuela and Tiongco, 2019)(Pranata *et al.*, 2022).

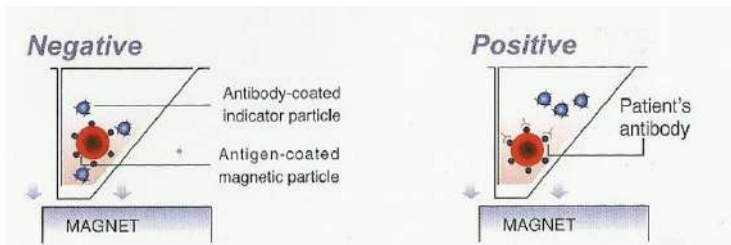
Tes Tubex memanfaatkan prinsip-prinsip yang telah diterapkan dalam tes Widal dan tes aglutinasi lateks. Namun, berbeda dengan kedua tes tersebut, Tes Tubex memperkenalkan penggunaan partikel berwarna guna meningkatkan tingkat resolusi dan sensitivitas. Selain itu, untuk meningkatkan spesifisitas, tes ini menggunakan antigen O9 yang secara spesifik ditemukan pada *Salmonella* serogrup D. Namun demikian, Tes Tubex memiliki batasan yang perlu diperhatikan. Tes ini hanya mampu mendeteksi keberadaan antibodi IgM, sementara tidak mampu mendeteksi antibodi IgG (Widyaningrat, Lestari and Yasa, 2015).

Seperti halnya dengan banyak pemeriksaan laboratorium lainnya, Tes Tubex juga memiliki aspek positif dan negatif. Aspek positifnya yaitu Tes Tubex memungkinkan deteksi awal infeksi akut yang disebabkan oleh *S. Typhi*. Prosedurnya sederhana, hanya memerlukan sedikit sampel darah, dan langkah-langkahnya mudah dipahami. Hasilnya juga dapat diperoleh dengan cepat. Studi di Filipina menunjukkan bahwa Tes Tubex memiliki tingkat sensitivitas sebesar 95% dan spesifisitas sebesar 80%. Sedangkan

aspek negatifnya yaitu hasil tes bergantung pada penilaian subjektif karena dipengaruhi oleh penilaian visual dari pemeriksa. Biayanya lebih mahal daripada tes Widal. Tes Tubex tidak mampu mengidentifikasi infeksi yang disebabkan oleh *S. paratyphi* (Widyaningrat, Lestari and Yasa, 2015).



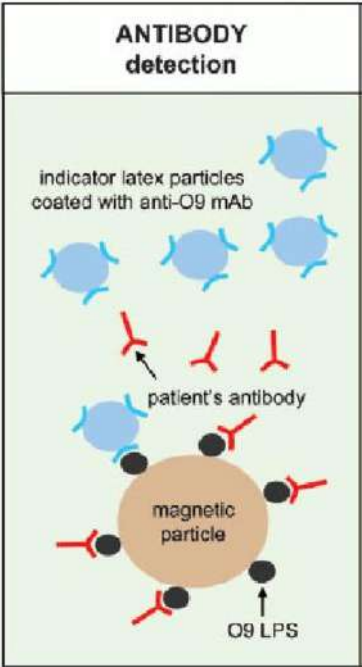
Gambar 10.1. Skala Warna Pemeriksaan IgM Anti Salmonella, merk TUBEX (Ilham, Nugraha and Purwanta, 2017)



Gambar 10.2. Mekanisme hasil negatif dan positif (Septiawan, Herawati and Yasa, 2013)

Pada prinsipnya partikel indikator yang dilapisi antibodi monoklonal akan berikatan dengan partikel magnetik yang dilapisi dengan antigen. Apabila sampel serum menunjukkan hasil negatif terhadap antibodi *Salmonella* O9, partikel indikator yang telah dilapisi dengan antibodi monoklonal akan bergabung dengan partikel magnetik yang telah dilapisi dengan antigen. Ketika ditempatkan di dalam penyangga magnet, partikel magnetik akan mengendap di bagian bawah tabung karena adanya tarikan magnetik antara partikel magnetik dan penyangga magnet. Partikel

indikator berwarna biru yang terikat pada partikel magnetik juga akan mengendap. Akibatnya, larutan hanya akan menampilkan warna merah sebagai latar belakang, yang disebabkan oleh adanya microspheres merah yang tidak aktif. Namun, jika serum pasien mengandung antibodi Salmonella O9, antibodi tersebut akan berikatan dengan partikel magnetik, mencegah partikel indikator berikatan dengan partikel magnetik. Sebagai hasilnya, partikel indikator biru yang tidak terikat akan tetap tersebar di dalam larutan, menyebabkan warna biru. Intensitas warna dapat bervariasi dari biru kemerahan hingga biru tua, tergantung pada konsentrasi antibodi dalam sampel, di mana konsentrasi yang lebih tinggi akan menghasilkan warna biru yang lebih dalam (Septiawan, Herawati and Yasa, 2013).



Gambar 10.3. Mekanisme hasil positif (Septiawan, Herawati and Yasa, 2013)

Tahapan pemeriksaan di laboratorium terdiri dari tiga tahapan yaitu pra analiti, analitik dan pasca analitik. Pada tahapan

pra analitik pemeriksaan IgM Anti Salmonella (TUBEX TF) diperlukan alat dan bahan diantaranya adalah reagen yang berisi sebagai berikut:

1. TUBEX® TF Brown Reagent
2. TUBEX® TF Blue Reagent
3. TUBEX® TF Negative Control
4. TUBEX® TF Positive Control
5. TUBEX® Reaction Wells
6. TUBEX® Sealing Tape

Aksesoris lain yang dibutuhkan:

1. TUBEX® Color Scale
2. Mikropipet Presisi
3. Vortex
4. Shaker

Bahan spesimen yang digunakan adalah serum/plasma heparin. Alat lain yang dipakai diantaranya tip dan timer.

Tahapan analitik dapat dilihat melalui langkah-langkah sebagai berikut:

1. Tempatkan kit reagen dan komponen uji yang diperlukan pada suhu ruang ($18 - 26^{\circ}$) selama minimal 15 menit sebelum digunakan. Sediakan label berwarna pada setiap botol dan tutup reagen. Campur rata semua reagen dan sampel pasien dengan mengocok secara menyeluruh hingga homogen.



Gambar 10.4. Menyiapkan reagen pada suhu ruang

2. Homogenkan Reagen Coklat dengan vortex. Pastikan bahwa semua endapan telah larut sepenuhnya. Tambahkan 45

mikroliter Reagen Coklat ke setiap sumuran yang akan digunakan.



Gambar 10.5. Memipet reagen coklat pada well/sumuran

3. Tambahkan 45 mikroliter sampel pasien (serum/plasma Heparin), kontrol positif, dan kontrol negatif ke sumuran yang telah ditentukan. Campurkan dengan menggunakan pipet dengan gerakan naik turun sebanyak 5-10 kali. Inkubasikan selama 2 menit di atas meja kerja pada suhu ruang.



Gambar 10.6. Inkubasi 2 menit

4. Homogenkan Reagen Biru dengan vortex. Pastikan bahwa semua endapan telah larut sepenuhnya. Tambahkan 90 mikroliter Reagen Biru ke dalam setiap sumuran yang akan digunakan.



Gambar 10.7. Penambahan reagen biru

5. Tutup strip well dengan rapat menggunakan Sealing Tape yang tersedia. Pegang bagian atas dan bawah strip well dengan tangan dan putar strip well reaksi 90°. Lakukan pengocokan cepat dalam posisi horizontal selama 2 menit, baik dengan menggunakan tangan atau shaker.



Gambar 10.9. Menutup Well

6. Tempatkan strip well reaksi di rak Magnet yang memiliki Color Scale. Biarkan strip well reaksi tersebut diam selama 5 menit. Setelah itu, baca hasilnya.



Gambar 10.10. Menempatkan pada magnet skala warna

7. Perbandingkan warna yang muncul pada masing-masing sumuran reaksi dengan skala warna pada rak magnet (Color Scale), dan fokuskan interpretasi pada deteksi warna biru. Hasilnya dianggap negatif jika warnanya adalah pink dengan nilai 0-2, borderline jika nilainya antara 2-4, dan positif jika warnanya biru dengan nilai 4-10.



Gambar 10.11. Membandingkan dengan skala warna

10.3 Validitas Uji Serologi Imunoglobulin M Anti Salmonella typhi

Metode diagnostik yang cepat dan akurat sangat penting untuk mendapatkan pengobatan yang cepat dan efektif, dan terlebih lagi, untuk mencegah komplikasi, karena komplikasi dapat terjadi jika penyakit tidak segera diobati. Untuk memberikan manfaat

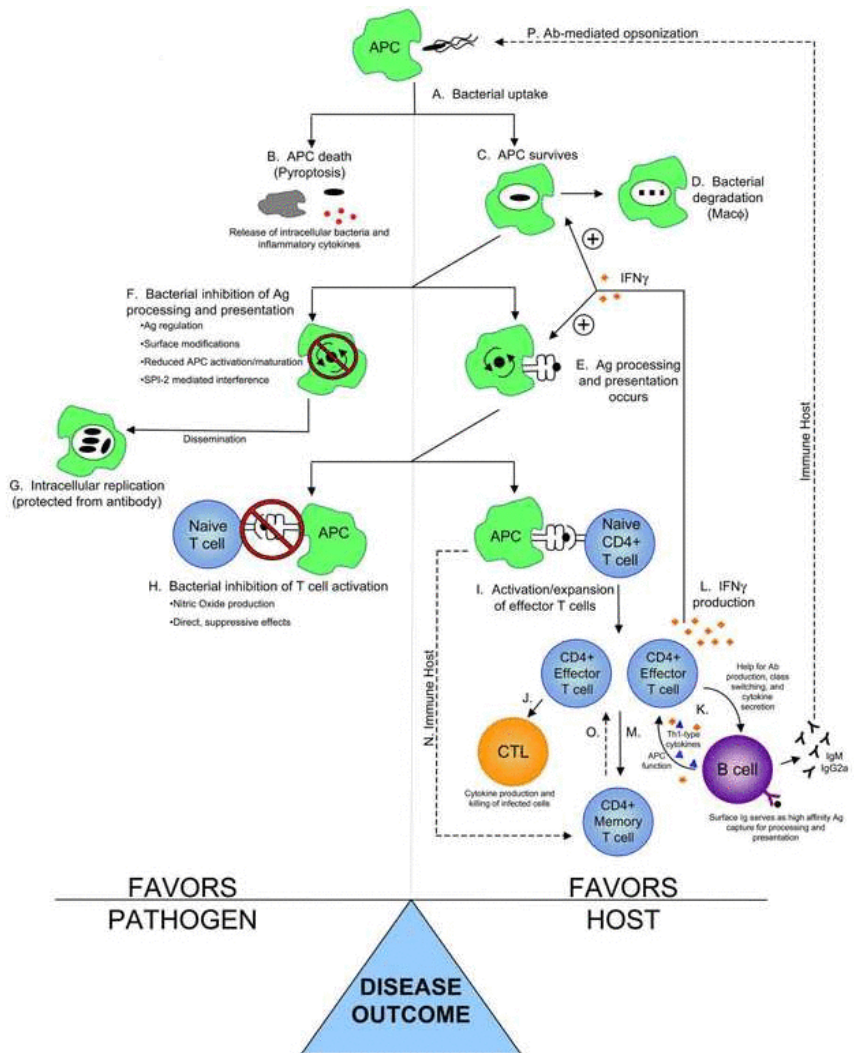
terbaik dalam mendiagnosa, pemeriksaan TUBEX perlu dilakukan uji validasi. Berdasarkan riset yang dilakukan oleh Marsela, Setiabudi dan Indrati, 2017, yaitu mengenai “Validitas Uji Serologi Immunoglobulin M Anti Salmonella typhi pada Demam Tifoid pada Anak” menunjukkan bahwa Uji IgM anti S. typhi menunjukkan kinerja yang lebih baik ketika “cut-off >8” atau batasnya ditetapkan di atas 8, dibandingkan dengan “cut-off ≥ 4 ” atau batas yang ditetapkan di atas atau sama dengan 4, dalam hal Area Under the Curve (AUC)(Marsela, Setiabudi and Indrati, 2017). *Area Under the Curve* (AUC) menentukan kemampuan interpretasi yang bermakna untuk klasifikasi penyakit dari subjek sehat (Hajian-Tilaki, 2013).

10.4 Respon Imun Terhadap Salmonella sp

Timbulnya penyakit demam thypoid merupakan akibat dari interaksi yang terakumulasi antara Salmonella dan sistem kekebalan adaptif inang. Selama infeksi Salmonella, terdapat beberapa titik interaksi antara patogen dan sel imun inang. Berbagai hasil mungkin terjadi sebagai hasil dari setiap interaksi ini; hasil yang dominan tidak hanya ditentukan oleh kekuatan patogen, tetapi juga oleh resistensi atau kerentanan bawaan inang, serta paparan sebelumnya inang terhadap patogen (status imun inang). Penyerapan bakteri oleh sel antigen-presenting (APC) menghasilkan eliminasi APC melalui piroptosis atau kelangsungan hidup APC. Piroptosis mengakibatkan pelepasan sitokin inflamasi IL-1 β dan IL-18, serta kemungkinan pelepasan bakteri atau antigen bakteri untuk diambil oleh APC di sekitarnya. Beberapa APC, seperti makrofag, dapat menghancurkan bakteri intraseluler. Jika APC bertahan, mereka mungkin dapat memproses dan menyajikan antigen dalam konteks MHC. Salmonella mengganggu proses ini melalui berbagai mekanisme termasuk represi ekspresi antigen, modifikasi permukaan bakteri yang mengurangi ketersediaan antigen, serta stimulasi atau pematangan APC, dan proses lain yang bergantung pada SPI-2 yang memediasi kelangsungan hidup bakteri dalam fagosom.

Pada saat terlindungi dari deteksi antibodi, Salmonella intraseluler dapat menggunakan APC sebagai sarana penyebaran dan replikasi sistemik. Jika APC mampu mengatasi gangguan bakteri

dalam memproses dan menyajikan antigen ke sel T, *Salmonella* masih dapat menghambat aktivasi sel T melalui stimulasi produksi oksida nitrat (NO) dan efek supresif langsung lainnya. Pengenalan kompleks peptida-MHC pada APC oleh sel T naif yang mengekspresikan reseptor sel T (TCR) mengarah pada aktivasi dan perluasan sel T efektor spesifik antigen. Sel T CD4⁺ efektor memberikan bantuan untuk aktivasi CTL CD8⁺ dan sel B. Sel B dan sel T bekerja secara sinergis: sel T memberikan bantuan untuk produksi antibodi, peralihan kelas isotipe, dan produksi sitokin oleh sel B, sedangkan produksi sitokin oleh sel B mendukung diferensiasi sel T Th-1, dan Ig pada permukaan sel B memediasi penangkapan antigen untuk diproses dan dipresentasikan ke sel T. Sitokin seperti IFN- γ diproduksi oleh sel T efektor untuk lebih meningkatkan fungsi APC dan mengaktifkan degradasi bakteri oleh makrofag. Dalam inang yang memiliki sistem kekebalan, sel T memori spesifik antigen yang sebelumnya diprioritaskan dapat diaktifkan oleh APC yang memproses dan menyajikan antigen; aktivasi sel-sel ini dan fungsi efekturnya jauh lebih cepat dibandingkan sel T naif. Selain itu, antibodi yang bersirkulasi yang dihasilkan dari imunisasi sebelumnya memfasilitasi penyerapan bakteri melalui opsonisasi, sehingga meningkatkan efisiensi presentasi antigen hingga 1.000 kali lipat. Dengan demikian, hasil akhir dari infeksi merupakan hasil kumulatif dari interaksi yang kompleks antara patogen dan inang (Keyt *et al.*, 2020)



Gambar 10.12. Mekanisme respon imun terhadap salmonella sp(Keyt *et al.*, 2020)

DAFTAR PUSTAKA

- Bundalian, R., Valenzuela, M. and Tiongco, R.E. (2019) 'Achieving accurate laboratory diagnosis of typhoid fever: a review and meta-analysis of TUBEX® TF clinical performance', *Pathogens and Global Health*, 113(7), pp. 297–308. Available at: <https://doi.org/10.1080/20477724.2019.1695081>.
- Hajian-Tilaki, K. (2013) 'Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis for medical diagnostic test evaluation', *Caspian Journal of Internal Medicine*, 4(2), pp. 627–635.
- Ilham, I., Nugraha, J. and Purwanta, M. (2017) 'Deteksi IgM Anti Salmonella Enterica Serovar Typhi dengan Pemeriksaan Tubex TF dan Typhidot-M', *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 19(2), p. 127. Available at: <https://doi.org/10.20473/jbp.v19i2.2017.127-142>.
- Keyt, B.A. *et al.* (2020) 'Structure, function, and therapeutic use of IgM antibodies', *Antibodies*, 9(4), pp. 1–35. Available at: <https://doi.org/10.3390/antib9040053>.
- Marsela, H., Setiabudi, D. and Indrati, A.R. (2017) 'Validity of Immunoglobulin M Anti Salmonella typhi Serologic Test in Childhood Typhoid Fever', *Althea Medical Journal*, 4(1), pp. 138–142. Available at: <https://doi.org/10.15850/amj.v4n1.1035>.
- Pranata, I.W.A. *et al.* (2022) 'Persistence of anti-Salmonella O9 IgM as measured by Tubex® TF may contribute to the over-diagnosis of typhoid fever in endemic areas', *Bali Medical Journal*, 11(1), pp. 11–17. Available at: <https://doi.org/10.15562/bmj.v11i1.3035>.
- Septiawan, I.K., Herawati, S. and Yasa, I.W.P.S. (2013) 'Pemeriksaan Immunoglobulin M Anti Salmonella Dalam Diagnosis Demam Tifoid', *e-Jurnal Medika Udayana*, 2(6), pp. 1080–1090.
- Veeraraghavan, B. (2018) 'Typhoid fever: Issues in laboratory detection, treatment options & concerns in management in developing countries', *Future Science OA*. Available at: <https://doi.org/10.4155/fsoa-2018-0003>.

Widyaningrat, S., Lestari, A. and Yasa, I. (2015) 'Karakteristik Hasil Pemeriksaan Igm Anti Salmonella Typhi Di Laboratorium Surya Husadha Denpasar Pada Bulan Juni -November 2013', *E-Jurnal Medika Udayana*, 4(11), pp. 1-14.
https://numedika.id/assets/imgs/shop/38e1a4993bdcfde1d03c93be8ff3c6b7.SOP%20Tubex_bahasa.pdf

BIODATA PENULIS



Indra Taufik Sahli, A.Md.AK., S.Si., M.Biomed

Dosen Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medis
Poltekkes Kemenkes Jayapura

Penulis lahir di Trenggalek tanggal 20 Juni 1979. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes kemenkes Jayapura. Menyelesaikan pendidikan Sekolah Menengah Analis Kesehatan (SMAK) Depkes Jayapura tahun 1999 dan D3 pada Akademi Analis Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri tahun 2003. Menempuh Pendidikan S1 pada Program Studi Farmasi Kosentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan lulus tahun 2011 dan menyelesaikan S2 pada program studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang tahun 2019 mengambil peminatan Mikrobiologi dan Imunologi. Beberapa buku telah diterbitkan diantaranya Buku Bakteriologi : Praktikum Teknologi Laboratorium Medik, Buku Imunohematologi dan Bank Darah, Buku Biomedik Dasar, Buku Metabolisme Zat Gizi, Buku Imunologi Dasar, Buku Protein Biofilm Bakteri *Stapylococcus aureus* dan Produksi Antibodi Poliklonal, Buku Biologi Molekuler, Buku Mikrobiologi, Buku Bakteriologi I, Buku Mikologi dan Buku Penuntun praktikum Imunoserologi.

BIODATA PENULIS



Lusia Sudarmi, S.Si.T., M.Biomed

Dosen Program Studi Teknologi Laboratorium Medik
Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Katolik Musi Charitas (UKMC)
Palembang

Penulis lahir di Gisting tanggal 17 Desember 1987. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Teknologi Laboratorium Medik Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Katolik Musi Charitas Palembang. Penulis menyelesaikan pendidikan DIV pada Jurusan Analis Kesehatan di Universitas Katolik Musi Charitas (2011-2015) dan melanjutkan S2 pada Jurusan Ilmu Biomedik BKU Imunologi dan Sains Transfusi di Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya (2020-2022)

BIODATA PENULIS



Agnes Felicia Lubis, S.Si.T.,M.Biomed.

Dosen Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medis
Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Katolik Musi Charitas

Penulis lahir di Palembang, pada tanggal 24 Januari 1994. Penulis adalah dosen tetap pada Program DIV Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Katolik Musi Charitas. Menyelesaikan pendidikan S1 pada jurusan DIV Analis Kesehatan di Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Katolik Musi Charitas dan melanjutkan S2 pada Jurusan Ilmu Biomedik dengan bidang keahlian khusus Imunologi dan Sains Transfusi di Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya.

BIODATA PENULIS



Ria Amelia, S.Si., M.Imun.

Dosen STIKes Mitra Keluarga
Prodi DIII Teknologi Laboratorium Medis

Penulis lahir di Jakarta 26 April 1989. Beliau telah menyelesaikan Pendidikan S-1 Biologi di Universitas Negeri Jakarta pada tahun 2006-2011. Kemudian menyelesaikan pendidikan S-2 Imunologi di Universitas Airlangga pada tahun 2012-2015. Perjalanan karir dimulai dari menjadi peneliti stem cell dan biologi molekuler disalah satu klinik swasta tahun 2015. Pada tahun 2016 menjadi dosen di program studi DIII Teknologi Laboratorium Medis STIKes Mitra Keluarga. Saat ini mata kuliah yang telah diajarkan beliau antara lain yaitu: Imunoserologi, Imunohematologi, Imunologi Dasar, Hematologi, Urinalisa, Cairan Tubuh, Kimia Klinik dan Sitohistoteknologi.

Buku yang telah ditulis oleh yaitu Imunoserologi: Teknologi Laboratorium Medis, Biokimia Dasar, Mikrobiologi Umum dan Konsep Dasar Imunologi dan Gizi. Penulis juga aktif dalam melakukan penelitian dan publikasi ilmiah. Hasil publikasi beliau yang dapat diakses pada <https://orcid.org/0000-0002-1673-7141>

BIODATA PENULIS



Haerani Harun

Staf Dosen Prodi Kedokteran

Penulis lahir di Ujung Pandang tanggal 14 Desember 1981. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Tadulako Palu. Menyelesaikan Pendidikan Dokter di Universitas Hasanuddin Makassar pada tahun 2007, Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Klinik dan Magister Kesehatan di Universitas Hasanuddin Makassar tahun 2016, dan S3 Kesehatan Masyarakat di Universitas Hasanuddin Makassar lulus tahun 2023. Penulis juga bekerja sebagai dokter spesialis Patologi Klinis di beberapa Rumah Sakit dan Laboratorium di Kota Palu

BIODATA PENULIS



Erawati, S.Si., M.Si.

Dosen Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medis
Fakultas Teknologi dan Manajemen
Kesehatan Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri

Penulis lahir di Surabaya tanggal 28 Oktober 1982. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Teknologi dan Manajemen Kesehatan Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri. Menyelesaikan pendidikan S1 pada Jurusan Biologi di Universitas Airlangga Surabaya dan melanjutkan S2 pada Jurusan Ilmu Kedokteran Dasar, Minat Studi Kedokteran Laboratorium di Universitas Airlangga Surabaya. Penulis menekuni bidang Menulis dengan mengeluarkan karya kerjasama dengan dosen TLM dengan judul buku Imunoserologi TLM penerbit EGC Kedokteran Press di Bab Deteksi Antigen dan Antibodi. Penulis mengajar di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis baik jenjang D3 dan D4 TLM dengan mata pelajaran Imunoserologi, Imunohematologi, Sitohistoteknologi, Mikologi, Biologi Sel dan Biologi Molekuler. Penulis telah menghasilkan karya baik dari hasil Penelitian maupun hasil Pengabdian Masyarakat baik di bidang Teknologi Laboarotium Medis maupun bidang kesehatan yang lain yang telah dipublikasikan di jurnal penelitian dan jurnal pengabdian masyarakat baik nasional maupun jurnal nasional terakreditasi. Keahlian penulis terutama di bidang Imunoserologi, Biologi sel dan molekuler serta bidang TLM yang lain. Secara akademik penulis

telah menjadi pembimbing PKL, PBL dan PKMD mahasiswa serta sebagai pembimbing Tugas Akhir Mahasiswa di bidang TLM.

BIODATA PENULIS



Fitri Rahmi Fadhillah, S.Si.,M.Biomed

Dosen Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medik
Fakultas Kesehatan Institut Kesehatan Rajawali

Fitri Rahmi Fadhillah., lahir di Bandung, 3 April 1991. Jenjang Pendidikan S1 Jurusan Biologi ditempuh di Universitas Padjadjaran, Jatinangor, lulus tahun 2013. Pendidikan S2 Ilmu Biomedik, lulus tahun 2017 di Universitas Indonesia. Saat ini aktif mengajar sebagai dosen tetap di Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medik Institut Kesehatan Rajawali. Beberapa jurnal yang sudah di terbitkan, yaitu **Evaluasi Pemeriksaan *Treponema Pallidum Rapid* (Tp-rapid) Dan *Treponema Pallidum* Haemagglutination Assay (Tpha) Pada Kelompok Wanita Pekerja Seks Di Kota Bandung** tahun 2023, **The Effect of Different Extraction Temperatures of SARS-COV2 RT-PCR Examination Process On CT Value In Patient Specimens In Labkesda Kabupaten Sukabumi, Indonesia** tahun 2022, **Pengaruh Penambahan Serasah Daun Muntingia Calabura Terhadap Aktivitas Konsorsium Bakteri Kotoran Kambing Dalam Bioremediasi Logam Mn Pada Limbah Rumah Sakit** tahun 2021, **Uji In Vitro Vaksin DNA Pengeksprei Antigen Fusi Hemagglutinin Virus Influenza A H5N1 Dan VP22 Pada Kultur Sel Chinese Ovarian Hamster (CHO)** tahun 2017, dan **Analisis filogenetik gen L1 human papillomavirus 16 pada penderita kanker serviks di Bandung** tahun 2015.

BIODATA PENULIS



Suyarta Efrida Pakpahan, S.KM., M.Si.

Dosen Program Studi Dosen Program Studi DIV Teknologi
Laboratorium Medik Institut Kesehatan Rajawali

Penulis lahir di Lubuk Pakam, 01 Juni 1074. Menyelesaikan pendidikan tinggi; Diploma III pada Program Studi Analisis Kesehatan di STIKes M. Thamrin (1996); Pendidikan Sarjana (S-1) pada Program Studi Kesehatan Masyarakat di STIKes A. Yani Cimahi (2005); Pendidikan Magister (S-2) pada Program Studi Biologi Sel Molekuler di Institut Teknologi Bandung (2014). Saat ini sedang tercatat sebagai mahasiswa Program Doktor Program Studi Biologi di Institut Teknologi. Tercatat juga sebagai dosen tetap pada Fakultas Kesehatan Program studi DIV Teknologi Laboratorium Medik, Institut Kesehatan Rajawali di Bandung Jawa barat. Penulis terdaftar dalam organisasi profesi Persatuan Ahli Laboratorium Medik Indonesia (Patelki) dan organisasi Asosiasi Institusi Pendidikan Tinggi Teknologi Laboratorium Medis Indonesia (AIPTLMI). Penulis telah menulis beberapa artikel, yang diterbitkan pada jurnal Internasional dan nasional terakreditasi. Penulis dapat dihubungi melalui email: suyartaefrida@gmail.com atau HP/WA 0822- 2122-2919.

BIODATA PENULIS



Thaslifa, S.Si.,M.Sc.

Dosen Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medis
Fakultas Teknologi Kesehatan Universitas Megarezky
Makassar, Sulawesi Selatan

Penulis lahir di Watansoppeng tanggal 04 November 1989. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Teknologi Kesehatan, Universitas Megarezky. Menyelesaikan pendidikan S1 (2011) pada Konsentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan (TLK) di Universitas Hasanuddin dan melanjutkan pendidikan S2 (2012) pada Jurusan Imunologi dan Biologi Molekular Infeksi Tropis Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Penulis telah menghasilkan beberapa book chapter dalam bidang hematologi dan parasitologi.

BIODATA PENULIS



Meri, S.KM., M. Imun

Dosen Program Studi D3 Analis Kesehatan
Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Bakti Tunas Husada

Meri, SKM., M. Imun, Lahir di Kota Tasikmalaya, 16 Maret 1981. Pendidikan formal: SDN 2 Cikalang Tasikmalaya, SMPN 1 Tasikmalaya, SMAN 2 Tasikmalaya, D3 Analis Kesehatan Universitas Bakti Tunas Husada Tasikmalaya, S1 Kesehatan Masyarakat Universitas Siliwangi Tasikmalaya, dan S2 Imunologi di Universitas Airlangga Surabaya. Kini penulis sebagai Dosen Tetap di Universitas Bakti Tunas Husada Tasikmalaya, sejak 2017, dengan jabatan saat ini adalah Lektor 300, dan penempatan di Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM), Pengurus Jurnal JUPEMAS sebagai Editor, Reviewer Jurnal Kesehatan dengan SINTA 4 (*Journal of Health/JoH*), dan Reviewer di Jurnal Pengabdian Masyarakat (ABDIKAN). Penulis berpengalaman sebagai Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM) di beberapa laboratorium di Rumah Sakit Swasta dan Institusi Pendidikan) dari tahun 2003-2016. Penulis merupakan dosen pengampu utama mata kuliah Imunologi, Hematologi, dan Manajemen Laboratorium, Virologi, Imunohematologi, Sitohistoteknologi, Kimia Klinik, dan Instrumen Laboratorium. Hobi yang ditekuni adalah menulis buku. Karya buku yang diterbitkan sebanyak 26 buku. Alamat email: merimeriani1@gmail.com atau meri@universitas-bth.ac.id, Whatsapp/telegram: 085217894100