

## Kesesuaian Uji Immunokromatografi dengan *Enzyme Linked Fluorescent Assay* untuk Deteksi *Hepatitis B Surface Antigen*

Nomira Putri<sup>1</sup>, Dianni Arma Wahyu Setia Ningsih<sup>2</sup>, Bella Lucintarillova Arif Lubis<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>Fakultas Kedokteran Universitas Negeri Padang

Corresponding Author: [nomi1311@fk.unp.ac.id](mailto:nomi1311@fk.unp.ac.id)

### Article History

Received: 8-8-2024

Revised: 19-8-2024

Published: 21-8-2024

### Keywords:

*Hepatitis B*, *HBsAg*,  
immunochromatographic  
assay, *ELFA*

### KataKunci:

*Hepatitis B*, *HBsAg*, uji  
imunokromatografi,  
*ELFA*

**Abstract:** *Hepatitis B virus (VHB) infection is a global health problem. Hepatitis B surface antigen (HBsAg) as a serologic marker of hepatitis B virus infection can be detected by immunochromatography and Enzyme Linked Fluorescent Assay (ELFA). The aim of this study is to prove the agreement of immunochromatographic test with ELFA to detect HBsAg. This study used a cross-sectional analytic method on 30 patients for HBsAg examination at the Central Laboratory of Clinical Pathology. HBsAg was tested in patient's serum using immunochromatography and ELFA test. The agreement between the two methods was analyzed using the Kappa test. The Kappa coefficient between the two tests was 0.69 with good strength. The concordance of immunochromatographic assay with ELFA to detect HBsAg in this study gave good results.*

**Abstrak:** infeksi virus hepatitis b (VHB) merupakan masalah kesehatan global. *Hepatitis B surface antigen (HBsAg)* sebagai penanda serologi infeksi virus hepatitis B dapat dideteksi dengan uji imunokromatografi dan *Enzyme Linked Fluorescent Assay (ELFA)*. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan kesesuaian uji imunokromatografi dengan *ELFA* untuk mendeteksi *HBsAg*. Penelitian ini menggunakan metode analitik potong lintang terhadap 30 pasien untuk pemeriksaan *HBsAg* di Laboratorium Sentral Patologi Klinik. Pemeriksaan *HBsAg* terhadap serum pasien menggunakan uji imunokromatografi dan *ELFA*. Kesesuaian antara kedua metode dianalisis menggunakan uji Kappa. Koefisien Kappa antara kedua pemeriksaan ini adalah 0,69 dengan kekuatan yang baik. Kesesuaian uji imunokromatografi dengan *ELFA* untuk mendeteksi *HBsAg* pada penelitian ini memberikan hasil yang baik.

## PENDAHULUAN

Infeksi virus hepatitis B (VHB) adalah peradangan hati yang disebabkan oleh VHB yaitu suatu virus *deoxyribonucleic acid (DNA)* untai ganda, genus *orthohepadna* dan famili *hepadnaviridae*. Virus ini berdiameter 42 nm yang terdiri dari selubung luar atau *hepatitis B surface antigen (HBsAg)*.

Infeksi VHB masih menjadi masalah kesehatan global terutama di negara berkembang. *World Health Organization (WHO)* mengelompokkan prevalensi infeksi VHB atas daerah dengan endemisitas tinggi (> 8%), endemisitas menengah (2%-8%) dan endemisitas rendah (<2%). Negara dengan endemisitas tinggi adalah Afrika, Cina, Korea dan beberapa negara di Asia Tenggara sedangkan negara dengan endemisitas sedang adalah Jepang, Amerika Latin dan Selatan serta negara dengan endemisitas rendah adalah Amerika Utara, Australia dan Selandia Baru. Hasil Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2007 ditemukan *HBsAg* positif sebanyak 9,4%. Jumlah kasus hepatitis B di Jawa Tengah pada tahun 2012 adalah 98 kasus yaitu terbanyak di Tegal. Jumlah ini menurun drastis dibandingkan tahun 2011 yaitu 170 kasus. Kasus hepatitis B di Sumatera Barat tahun 2012 adalah 452 kasus yang terdiri dari 213 kasus pada laki-laki dan 239 kasus pada perempuan.



Deteksi VHB dilakukan dengan beberapa penanda serologi hepatitis B dan HBsAg merupakan penanda serologi pertama yang dapat dideteksi setelah seseorang terinfeksi VHB. Penanda ini muncul pada masa inkubasi infeksi hepatitis akut yaitu 4-12 minggu. Hasil positif pada pemeriksaan HBsAg menunjukkan bahwa seseorang sedang terinfeksi hepatitis B dan apabila menetap lebih dari 6 bulan dalam sirkulasi hal ini menunjukkan seseorang terinfeksi hepatitis B kronis.

Pemeriksaan HBsAg dapat dilakukan dengan metode *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA), *enzyme linked fluorescent assay* (ELFA), imunokromatografi dan *latex agglutination* (LAT). Metode yang banyak digunakan di negara berkembang adalah imunokromatografi karena biayanya murah, pengerjaannya cepat dan tidak membutuhkan ketrampilan khusus. Metode imunokromatografi dan ELFA memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang sama yaitu > 99%. Metode ELFA pada alat Vidas memiliki sensitivitas dan spesifisitas 100%. Penelitian Ali *et al.*, (2009) membandingkan antara metode imunokromatografi dan ELFA dan didapatkan sensitifitas untuk metode imunokromatografi sebesar 98,5% dan spesifisitas 98%. Penelitian oleh Hayder *et al.*, (2012) terhadap beberapa alat dengan metode imunokromatografi dengan sebuah alat dengan metode ELISA didapatkan sensitivitas metode imunokromatografi sebesar 95%-98% dan spesifisitas 100%.

Pemeriksaan HBsAg yang murah dan cepat diperlukan di RSUP Dr.M.Djamil Padang karena adanya perubahan pola jaminan kesehatan yaitu Jaminan Kesehatan Nasional (JKN). Penelitian tentang pemeriksaan HBsAg dengan menggunakan kedua metode ini belum pernah dilakukan di RSUP Dr.M.Djamil Padang sehingga peneliti tertarik untuk mengetahui kesesuaian kedua metode ini.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah suatu penelitian analitik dengan rancangan potong lintang yang dilakukan di laboratorium Patologi Klinik RSUP Dr.M.Djamil Padang mulai Juli-Desember 2013. Sampel penelitian adalah bagian dari populasi yang memenuhi kriteria inklusi yaitu bersedia ikut penelitian dan diambil secara *consecutive sampling*.

Sebanyak 30 spesimen darah pasien yang datang ke labortorium sentral untuk pemeriksaan HBsAg diambil sebanyak 3 mL ditampung dalam vacutainer tanpa antikoagulan. Spesimen darah vena disentrifus selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm untuk mendapatkan serum yang digunakan untuk pemeriksaan HBsAg dengan metode imunokromatografi dan ELFA.

Uji imunokromatografi HBsAg merupakan pemeriksaan kualitatif yang berisi strip membran yang dilapisi dengan *mouse monoclonal anti-HBs capture antibody*. *Mouse monoclonal anti-HBs-colloid gold conjugate* dan serum bergerak sepanjang membran secara kromatografi menuju area tes (T) dan membentuk garis sebagai kompleks *antibody-antigen-antibody old particle*. Hasil positif jika terlihat 2 garis berwarna pada area T dan kontrol (C), negatif jika terlihat 1 garis berwarna pada area C dan invalid jika tidak terdapat garis berwarna pada kedua area atau hanya terdapat 1 garis berwarna pada area T.

Pemeriksaan HBsAg dengan uji ELFA merupakan pemeriksaan kualitatif otomatis dengan prinsip antigen dalam sampel berikatan dengan antibodi monoklonal yang dilapiskan pada *solid phase receptacle* (SPR) dan ke antibodi yang dilabel dengan biotin setelah tahap pencucian. Komponen sampel yang tidak terikat akan dibuang. Streptavidin yang berkonjugasi dengan alkalin fosfatase berikatan dengan biotin pada kompleks antigen antibodi. Komponen yang tidak berikatan akan hilang dengan

pencucian. Selanjutnya ditambahkan substrat (*4-Methyl-umbelliferylphosphate*) sehingga menghasilkan produk yang berfluoresen (*4-Methyl-umbelliferone*) dan diukur pada panjang gelombang 450 nm. Intensitas fluoresen sebanding dengan konsentrasi antigen yang terdapat dalam sampel. Hasil diperoleh secara otomatis dan dinyatakan positif jika hasil  $\geq 0,13$  dan negatif jika  $\leq 0,13$ . Data dikumpulkan dan ditampilkan dalam bentuk tabel.

## HASIL PENELITIAN

Penelitian dilakukan pada 30 spesimen serum pasien yang datan ke Laboratorium Sentral Patologi Klinik RSUP Dr. M. Djamil Padang untuk pemeriksaan HBsAg mulai Juli-Desember 2013. Karakteristik subjek penelitian berdasarkan jenis kelamin dan umur terlihat pada tabel 1. Jenis kelamin pasien terbanyak adalah laki-laki yaitu 21 orang (70%) dan umur rerata pasien adalah 62 tahun.

**Tabel 1. Karakteristik Subjek Penelitian**

No	Variabel	n (%)	Rerata (SD)
1.	Jenis kelamin:		
	Laki-laki	21 (70%)	
	Perempuan	9 (30%)	
2.	Umur (tahun)		62,23 (10,69)

**Tabel 2. Pemeriksaan HBsAg dengan Metode ELFA**

HBsAg	n (%)
Positif	5 (17%)
Negatif	25 (83%)

**Tabel 3. Pemeriksaan HBsAg dengan Metode Imunokromatografi**

HBsAg	n (%)
Positif	3 (10%)
Negatif	27 (90 %)

Analisis statistik dilakukan menggunakan uji Kappa dari tabel 2x2. Kesesuaian uji imunokromatografi dan ELFA didapatkan dengan hasil kategori baik (Kappa = 0,69).

## PEMBAHASAN

Penelitian oleh Ali *et al.*, (2009) mendapatkan sensitivitas metode imunokromatografi adalah 98,5% dan spesifisitas 98%. Penelitian ini juga menyatakan bahwa hasil pemeriksaan HBsAg dengan uji imunokromatografi memiliki kessuaian yang tinggi terhadap ELFA. Uji imunokromatografi tidak membutuhkan waktu yang lama dalam pengerjaannya yaitu 10-20 menit, biayanya lebih murah dan tidak membutuhkan ketrampilan khusus. Uji ELFA membutuhkan waktu pengerjaan yang lebih lama yaitu 60-90 menit, biayanya mahal dan membutuhkan ketrampilan khusus. Oleh sebab itu uji imunokromatografi lebih dianjurkan pada sarana laboratorium yang terbatas. Peneliti

belum menemukan penelitian yang menilai kesesuaian uji imunokromatografi dengan ELFA untuk deteksi HBsAg sampai saat ini.

Hasil pemeriksaan HBsAg yang positif menggunakan uji ELFA adalah 17% sedangkan dengan uji imunokromatografi adalah 10%. Perbedaan hasil pemeriksaan pada kedua uji dalam penelitian ini disebabkan oleh kadar HBsAg terendah yang dapat dideteksi oleh uji kromatografi adalah 1 ng/mL sedangkan dengan uji ELFA adalah 0,2 ng/mL.

## **KESIMPULAN**

1. Uji kromatografi dapat digunakan pada sarana laboratorium yang terbatas karena biayanya lebih murah, waktu pengerjaannya lebih singkat dan tidak membutuhkan ketrampilan khusus.
2. Kesesuaian uji imunokromatografi dengan ELFA untuk mendeteksi HBsAg didapatkan dengan nilai Kappa 0,69. Kesesuaian dengan nilai Kappa 0,69 menunjukkan hasil yang baik.

## **REFERENSI**

- Ali SHM, Al-Khalidi SJ, and Kasim WN. "Evaluation of performance Characteristics of Commercially Available Test for Diagnostic Hepatitis B Surface Antigenemia". *The Iraqi Postgraduate Medical Journal*. 2009
- Ansari MHK, Omrani MD, and Movahed V. "Comparative Evaluation of Immunochromatographic Rapid Diagnostic Test (Strip and Device) and PCR Methods for Detection of Human Hepatitis B Surface Antigens". *Hepatitis Monthly*. 2007
- Caspari G, Gerlich WH. "The Serologic Markers of Hepatitis B Virus Infection Proper Selection and Standardized Interpretation". *Clinical Laboratory Journal*. 2007
- Chameera EWS, Noordeen F, Pandithasundara H, and Abeykoon AMSB. "Diagnostic Efficacy of Rapid Assays Used for the Detection of Hepatitis B Virus Surface Antigen". *Sri Lankan Journal of Infection Diseases*. 2013
- Hayder I, Ahmed W, and Alam SE. "Comparison of Different ICT Kits for HBsAg and Anti HCV Using Gold Standard ELISA". *Pakistan Journal of Medical Research*. 2012
- Hepatitis B. "World Health Organization". 2002
- Lucifora J and Zoulim F. "The Life Cycle of Hepatitis B Virus and Antiviral Targets". 2011
- One Step HBsAg Rapid test. SD BIOLINE. 2012
- Profil Kesehatan Provinsi Jawa Tengah 2012. Semarang: Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah. 2013
- Profil Kesehatan Provinsi Sumatera Barat tahun 2012. Padang: Dinas Kesehatan Provinsi Sumatera Barat. 2013
- Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2007. Jakarta: Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008
- Shorts T. "Hepatitis B Virus". USA. 2009
- VIDAS HBsAg Rapid Test. SD BIOLINE. 2012