

## PERBANDINGAN HASIL PEMERIKSAAN HEPATITIS B *Surface Antigen* (HBsAg) MENGGUNAKAN METODE RAPID TEST DAN METODE *electrochemiluminescence immunoassay* (ECLIA) SEBAGAI *Gold Standar*

Firdaus Robani<sup>1</sup>, Ika Nurfajri Mentari<sup>2</sup>, Jumari Ustiauwaty<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Teknologi Laboratorium Medik, Politeknik Medica Farma Husada Mataram  
email: hasbifebriansah21@gmail.com

<sup>2</sup>Teknologi Laboratorium Medik, Politeknik Medica Farma Husada Mataram  
email: ikanurfajri26@gmail.com

<sup>3</sup>Teknologi Laboratorium Medik, Politeknik Medica Farma Husada Mataram  
Email : jumari.ustiauwaty@gmail.com

### Abstract

*Hepatitis B is an inflammatory and necrotic disease of liver cells caused by the hepatitis B virus which is systemic and asymptomatic in nature. This study aims to determine the differences in HBsAg examination results with the Rapid Test brands A, B, C and D. by using the gold standard electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) method as confirmation. The method used in this research is comparative which is comparing. The sample used was the blood of a patient with Hepatitis B with 5 repetition of the examination for each sample. The results of this study indicate that the results using the rapid tests A and B were not found to be positive for hepatitis B. Whereas in the examination using the C and D rapid tests, 8 samples (80%) were positive and 2 samples (20%) were negative. The results of confirmation using ECLIA are consistent with positive results. Examinations using rapid tests C and D were found to be positive as many as 8 samples (80%) and negative 2 samples (20%).*

**Keywords:** *Hepatitis B, Rapid Test, electrochemiluminescence immunoass (ECLIA).*

### PENDAHULUAN

#### Latar Belakang

Hepatitis merupakan peradangan hati yang bersifat sistemik, akan tetapi hepatitis bisa bersifat asimtomatik. Hepatitis ini umumnya lebih ringan dan lebih asimtomatik pada yang lebih muda dari pada yang tua. Lebih dari 80% anak – anak menularkan hepatitis pada anggota keluarga adalah asimtomatik, sedangkan lebih dari tiga perempat orang dewasa yang terkena hepatitis A adalah simtomatik. Hepatitis merupakan penyakit yang banyak ditemukan didunia dan dianggap sebagai persoalan kesehatan masyarakat yang harus diselesaikan, hal ini karena selain prevalensinya tinggi, virus hepatitis dapat menimbulkan problema pasca akut bahkan dapat terjadi

*cirroshis hepatitis dan karsinoma hepatoseluler primer. 10 % dari infeksi virus hepatitis akan menjadi kronik dan 20 % penderita hepatitis kronik ini dalam waktu 25 tahun sejak tertular akan mengalami cirroshishepatis dan karsinoma hepatoselluler. Kemungkinan akan menjadi kronik lebih tinggi bila infeksi terjadi pada usia balita dimana respon imun belum berkembang (Price, hepatoma & Wilson, 2005).*

Penyakit ini tersebar di seluruh dunia, terdapat sekitar 350 juta orang dengan hepatitis B kronis dan 4 juta kasus baru per tahun. Indonesia merupakan negara dengan endemisitas, hepatitis B tertinggi kedua di antara negara anggota WHO SEARO (*South-East Asian Regional Office*) setelah Myanmar dengan angka

carrier HBsAg 9,4%. Kadar anti-HBs digunakan sebagai *marker* proteksi terhadap hepatitis B virus dimana kadar anti-HBs  $\geq 10$  IU/L dianggap protektif terhadap infeksi HBV. Adanya anti-HBs dalam darah bisa didapatkan melalui vaksinasi, infeksi, dan juga *immunoprophylaxis* dengan HBIG. Anti-HBs juga digunakan sebagai penanda keberhasilan vaksinasi. Cakupan imunisasi hepatitis B di Indonesia pada tahun 2013 mencapai 86,8% tetapi angka anti-HBs positif pada masyarakat adalah 30,5%. Hal ini menunjukan bahwa hampir 70% masyarakat Indonesia tidak memiliki proteksi atau rentan terhadap infeksi hepatitis B (WHO, 2002).

Uji diagnostik terhadap infeksi virus hepatitis B, merupakan uji pendeteksian penanda (*marker*) virus hepatitis B, salah satunya dengan rapid tes. Untuk mendeteksi antigen permukaan virus hepatitis B, yang didasarkan pada presipitasi kompleks imun. Adanya HbsAg dalam serum merupakan petanda serologis infeksi hepatitis B (WHO, 2002). Salah satu uji cepat dapat dilakukan untuk mendeteksi adanya antigen virus hepatitis adalah dengan menggunakan metode rapid test.

Rapid test merupakan uji strip metode imunokromatografi untuk mendeteksi HBsAg secara kualitatif yang ditampilkan secara manual dan memerlukan pembacaan dengan mata. Selain jauh lebih praktis tes ini sudah secara luas digunakan dalam mendiagnosis dan skrining penyakit infeksi di negara berkembang. Tujuan adanya pemeriksaan HBsAg menggunakan *rapid test* ini adalah untuk mendeteksi kadar rendah antigen target yang ada pada darah dengan pasien asimtomatik (WHO, 2001). Keberadaan anti-HBs (*Hepatitis B surface antibody*). Keberadaannya mengindikasikan adanya paparan terhadap HBV sebelumnya, namun virus tidak lagi ada dan seseorang

tidak dapat menularkan virus pada orang lainnya. Antibodi juga melindungi tubuh dari serangan infeksi HBV dikemudian hari. Selain dari paparan langsung terhadap HBV, antibodi-antibodi juga dapat diperoleh dari vaksinasi yang sukses. (WHO, 2001).

Dalam pemeriksaan HBsAg, selain rapid test metode yang menjadi gold standar adalah ECLIA. Yang termasuk immunoassay adalah sebuah tes biokimia yang mengukur konsentrasi suatu substansi dalam cairan, biasanya berupa serum darah atau air seni dengan melihat reaksi antibodi terhadap antigennya. Pada prinsipnya Anti HBs metode (ECLIA) *electrochemiluminescence immunoassay* adalah dengan serum 40 ul, terbiotinilasi HBsAg dan HBsAg dilabeli dengan *Complex ruthenium* bereaksi membentuk kompleks Sandwich, inkubasi setelah penambahan dari *streptavidin* dilapisi *micropartikel*,

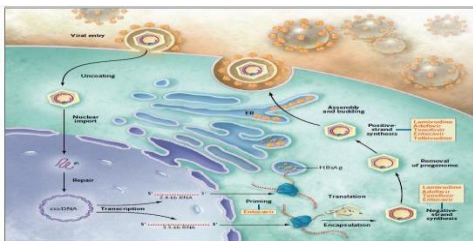
Rapid test sebagai salah satu metode untuk mendeteksi adanya anti-gen dari virus hepatitis telah banyak dilakukan. Masing-masing rapid test memiliki kemampuan yang berbeda beda dalam mendeteksi keberadaan anti-gen dari virus hepatitis, dilihat dari nilai sensitivitas dan spesifitas dari masing-masing rapid test. Namun sampai saat ini belum diketahui rapid test yang memiliki tingkat keakuratan yang sama dengan ECLIA. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai tingkat keakuratan rapid test tersebut dengan menggunakan hasil pemeriksaan dengan ECLIA. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan hasil stick Rapid Test hasil pemeriksaan Hepatitis B Surface Antigen HBsAg dengan menggunakan gold standar metode *electrochemiluminescence immunoassay* (ECLIA).

## **KAJIAN LITERATUR DAN PEGEMBANGAN HIPOTESIS**

### **1. Definisi dan Etiologi**

#### **a. Patogenesis Hepatitis B**

Masa inkubasi infeksi VHB bervariasi, yaitu sekitar 45-120 hari, dengan rerata 60-90 hari. Variasi tersebut tergantung jumlah virus yang menginfeksi, cara penularan, dan faktor host (WHO, 2002). Sel hati manusia merupakan target organ bagi virus hepatitis B. Virus ini mula-mula melekat pada reseptor spesifik di membran sel hati kemudian mengalami penetrasi ke dalam sitoplasma sel hati. Dalam sitoplasma, VHB melepaskan mantelnya sehingga melepaskan nukleokapsid. Selanjutnya nukleokapsid akan menembus dinding sel hati (Mustofa & Kurniawaty, 2013). Kemudian DNA VHB ditransport ke nukleus sel pejamu. Di nukleus, DNA membentuk *covalently closed circular* (ccc) yang disajikan sebagai bahan untuk transkripsi (Lee, 2012). Hasil transkripsi dan translasi virus di dalam hepatosit akan memproduksi protein-protein virus seperti protein *surface*, *core*, polimerase, dan protein X. Protein tersebut akan dibungkus oleh retikulum endoplasma dan dikeluarkan dari hepatosit sebagai antigen, salah satunya yaitu HBsAg (Ganem *et al.*, 2004).

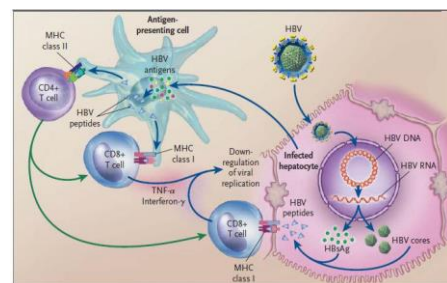


**Gambar 1.** Patogenesis infeksi virus hepatitis B

HBsAg tidak hanya diproduksi dari cccDNA, tetapi juga berasal dari rentetan DNA VHB pada antigen permukaan *open-reading frame*

(ORF) yang berintegrasi dengan genome hepatosit. HBsAg diproduksi dalam jumlah banyak dan bersirkulasi di serum pada individu yang terinfeksi VHB (Hadziyannis, 2013). Secara teori, cccDNA merupakan indikator terbaik dalam aktivitas transkripsi VHB di hepatosit. Level HBsAg berhubungan dengan level cccDNA (Lee, 2012).

Antigen VHB diekspresikan pada permukaan hepatosit dan melalui *antigen presenting cell* (APC) akan dipresentasikan kepada sel T helper. Sel T helper yang teraktivasi akan meningkatkan pembentukan sel B yang distimulasi antigen menjadi sel plasma penghasil antibodi dan meningkatkan aktivasi sel T sitotoksik. Sel T sitotoksik bersifat menghancurkan secara langsung hepatosit yang terinfeksi. Hal ini yang diperkirakan menjadi penyebab utama kerusakan hepatosit. Sel T sitotoksik juga dapat menghasilkan interferon- $\gamma$  dan tumor necrosis factor alfa (TNF- $\alpha$ ) yang memiliki efek antivirus tanpa menghancurkan sel target (Ganem *et al.*, 2004).



**Gambar 2.** Respon imun terhadap virus hepatitis B (Sumber: Ganem *et al.*, 2004)

Apabila seseorang terinfeksi virus hepatitis B akut maka tubuh akan memberikan tanggapan kekebalan. Ada tiga kemungkinan tanggapan kekebalan yang diberikan oleh tubuh terhadap

virus hepatitis B pasca periode akut. Kemungkinan pertama, jika tanggapan kekebalan tubuh adekuat maka akan terjadi pembersihan virus, pasien sembuh. Kedua, jika tanggapan kekebalan tubuh lemah maka pasien tersebut akan menjadi karier inaktif. Ketiga, jika tanggapan tubuh bersifat *intermediate* maka penyakit terus berkembang menjadi hepatitis B kronis (Hasyim, 2010). Pada hepatitis B kronik, HBsAg menetap selama lebih dari 6 bulan tanpa pembentukan antibodi anti-HBs ialah karena respon imun terutama sel T sitotoksik terhadap virus lemah sehingga produksi HBsAg ke sirkulasi berlebihan dan anti-HBs tidak terdeteksi (Ganem *et al.*, 2004).

#### b. **Diagnosis**

Diagnosis ditegakkan melalui anamnesis, pemeriksaan fisik, laboratorium, dan penunjang. Dari anamnesis umumnya tanpa keluhan, perlu digali riwayat transmisi seperti pernah transfusi, seks bebas, dan riwayat sakit kuning sebelumnya. Pada pemeriksaan fisik bisa didapatkan hepatomegali (Mustofa & Kurniawaty, 2013). Fase ikterik pada hepatitis virus akut dimulai biasanya pada sepuluh hari dari gejala awal dengan tanda urin gelap, diikuti kekuningan pada membran mukosa, konjungtiva, sklera, dan kulit. Sekitar 4-12 minggu setelahnya, kekuningan menghilang dan perbaikan penyakit dengan pembangunan antibodi protektif yang natural (anti-HBs) pada 95% dewasa (WHO, 2002).

Penanda imunologi Hepatitis B adalah dengan mendeteksi

antigen dan antibodi spesifik virus hepatitis B. Antigen pertama yang muncul adalah antigen *surface* (HBsAg). Antigen ini muncul dua minggu sebelum timbul gejala klinik, menandakan bahwa penderita dapat menularkan VHB ke orang lain, dan biasanya menghilang pada masa konvalesen dini. Apabila virus aktif bereplikasi di hepatosit, maka penanda yang selanjutnya muncul adalah antigen *envelope* (HBeAg). Terdeteksinya antigen ini menandakan bahwa orang tersebut dalam keadaan sangat infeksius dan selalu ditemukan pada semua infeksi akut. Titer HBeAg berkorelasi dengan kadar DNA VHB (Price & Wilson, 2005).

Antigen lain yaitu antigen *core* (HBcAg) yang hanya ada di dalam hepatosit sehingga tidak dapat dideteksi dalam serum. Namun yang bisa dideteksi yaitu antibodi terhadap antigen tersebut. Antibodi ini dapat terdeteksi segera setelah timbul gambaran klinis hepatitis dan menetap untuk seterusnya. Antibodi ini merupakan penanda kekebalan yang paling jelas didapat dari infeksi VHB, bukan dari vaksinasi. Antibodi ini terbagi menjadi fragmen IgM dan IgG yang merupakan penanda untuk mendeteksi infeksi baru atau infeksi yang sudah lama. IgM anti-HBc terlihat pada awal infeksi dan bertahan lebih dari 6 bulan. Sedangkan adanya predominansi antibodi IgG anti-HBc menunjukkan kesembuhan dari infeksi VHB secara alamiah di masa yang sudah lama (6 bulan) atau infeksi VHB kronis (Price & Wilson, 2005).

Antibodi terhadap HBeAg (anti-Hbe) muncul pada hampir semua infeksi VHB dan berkaitan dengan hilangnya virus-virus yang bereplikasi dan menurunnya daya tular. Antibodi terhadap HBsAg (anti-HBs) akan terjadi setelah infeksi alamiah atau dapat ditimbulkan oleh imunisasi. Antibodi ini timbul setelah infeksi membaik dan berguna untuk memberikan kekebalan jangka panjang. Hepatitis akut memiliki *window periode*, yaitu saat HBsAg sudah tidak terdeteksi namun anti-HBs belum terbentuk. Antibodi anti-HBs mulai dihasilkan pada minggu ke-32, sedangkan HBsAg sudah tidak ditemukan sejak minggu ke-24 (Price & Wilson, 2005).

Infeksi VHB secara akut memiliki dua fase siklus yaitu fase replikasi dan fase integratif. Pada fase replikasi, kadar HBsAg (*hepatitis B surface antigen*), HBV DNA, HBeAg, *aspartate aminotransferase* (AST) dan *alanine aminotransferase* (ALT) serum akan meningkat, sedangkan kadar anti-HBs dan anti HBe masih negatif (Hasyim, 2010). Peningkatan aminotransferase terutama ALT memiliki nilai yang bervariasi mulai dari ringan-sedang dengan peningkatan 3-10 kali lipat hingga peningkatan tajam lebih dari 100 kali lipat. Pada lebih dari 90% pasien terjadi peningkatan ALT dari normal menjadi 200 IU/ml. Selain itu juga terjadi peningkatan bilirubin serum, albumin, gammaglobulin meningkat ringan, dan waktu protrombin memanjang (WHO, 2002).

Pada fase integratif keadaan sebaliknya terjadi, HBsAg, HBV

DNA, HBsAg dan ALT/AST menjadi negatif/normal, sedangkan antibodi terhadap antigen yaitu anti HBs dan anti HBe menjadi positif (serokonversi). Keadaan demikian banyak ditemukan pada penderita hepatitis B yang terinfeksi pada usia dewasa di mana sekitar 95-97% infeksi hepatitis B akut akan sembuh karena imunitas tubuh dapat memberikan tanggapan adekuat (Hasyim, 2010).

Hepatitis B kronis ditandai dengan HBsAg positif lebih dari 6 bulan di dalam serum, tingginya kadar HBV DNA dan berlangsungnya proses nekroinflamasi kronis hati. Karier HBsAg inaktif diartikan sebagai infeksi HBV persisten hati tanpa nekroinflamasi. Sedangkan hepatitis B kronis eksaserbasi adalah keadaan klinis yang ditandai dengan peningkatan intermiten ALT lebih dari 10 kali batas atas nilai normal (Hasyim, 2010)

Menurut WHO (2002), terdapat tiga fase replikasi virus yang terjadi selama infeksi VHB terutama pada pasien dengan hepatitis B kronis, yaitu:

- 1) Fase replikasi tinggi. Pada tahap ini HBsAg, HBeAg, dan DNA virus dapat terdeteksi di serum. Kadar aminotransferase meningkat, dan aktivitas inflamasi nyata secara histologis. Pada fase ini, resiko menjadi sirosis tinggi.
- 2) Fase replikasi rendah. Tahap ini mulai hilangnya HBeAg, menurun atau hilangnya konsentrasi DNA VHB, dan mulai tampak anti-Hbe. Secarahistologis tampak penurunan aktivitas inflamasi



yang jelas. Pemeriksaan serologi mengalami serokonversi seperti DNA VHB dan HBeAg mulai tergantikan oleh antibodi.

- 3) Fase nonreplikasi. Penanda replikasi virus tidak ada dan inflamasi berkurang.

Pemeriksaan DNA dari virus diperlukan sebagai pertanda yang paling sensitif terhadap replikasi virus serta menunjukkan derajat penularan yang tinggi. DNA VHB dapat dijumpai pada serum dan hati setelah HBsAg menghilang, khususnya pada pasien dalam terapi antiviral, sebagai indikator yang baik untuk kadar viremia dan pada beberapa penelitian berkorelasi dengan kadar transaminase serum serta paralel dengan HBsAg. Karier hepatitis B merupakan individu dengan hasil pemeriksaan HBsAg positif pada sedikitnya dua kali pemeriksaan yang berjarak 6 bulan, atau hasil pemeriksaan HBsAg positif tetapi IgM anti-HBc nya negatif dari satu spesimen tunggal (Price & Wilson, 2005)

Pemeriksaan penunjang lainnya yang dapat membantu diagnosis hepatitis B adalah ultrasonografi abdomen di mana tampak gambaran hepatitis kronis. Biopsi hati dapat menunjukkan gambaran peradangan dan fibrosis hati (Mustofa & Kurniawaty, 2013). Tujuan pemeriksaan histologi adalah untuk menilai tingkatkerusakan hati, menyisihkan diagnosis penyakit hati lain, prognosis dan menentukan manajemen anti viral. Ukuran spesimen biopsi yang representatif adalah 1-3 cm (ukuran panjang) dan 1,2-2 mm (ukuran diameter) baik

menggunakan jarum Menghini atau Tru-cut. Salah satu metode penilaian biopsi yang sering digunakan adalah dengan *Histologic Activity Index score* (Hasyim, 2010).

### c. Metode diagnostik HbsAg

*Rapid test* merupakan metode ICT untuk mendeteksi HBsAg secara kualitatif yang ditampilkan secara manual dan memerlukan pembacaan dengan mata. Tes ini sudah secara luas digunakan dalam mendiagnosis dan skrining penyakit infeksi di negara berkembang. Tujuan adanya pemeriksaan HBsAg menggunakan *rapidtest* ini adalah untuk mendeteksi kadar rendah antigen target yang ada pada darahdengan pasien asimptomatik. (Lin *et al.*, 2008).

#### 1). Rapid D

Immunochromatografi test (ICT) HbsAg Rapid Test D dan jenis rapid test ini ialah card dan memiliki sensitivitas dan spesifitas 100%, salah satu alat untuk pemeriksaan Hepatitis, gangguan yang sering terjadi, zat umum seperti pada nyeri, obat demam, dan komponen darah) dapat mempengaruhi kinerja HbsAg Rapid Test D Hal ini di pelajari dengan meningkatkan dengan jumlah zat ini ke dalam tiga tingkatan kontrol HbsAg standar. Tambahkan 1 tetes saline atau buffer fosfat saline (buffer umum yang digunakan di klinik tidak di sediakan dalam kit) kedalam wadah sampel jika migrasi aliran tidak terlihat di jendela hasil dalam waktu 30 detik, yang dapat terjadi dengan spesimen yang sangat kental. (Rubin E,

farber JL ed. Patologi 2nd. 1994)

## 2). Rapid C

Kualitas dari produk rapid test C memiliki jenis model card ini merupakan penanda penanda markers yang bermamfaat untuk menentukan kemungkinan penularan virus oleh seseorang yang menderita infeksi virus hepatitis B kronis. Mendeteksi HbeAg dan Anti-Hbe dalam darah biasanya adalah eksklusif satu sama lain. Sesuai dengan itu, kehadiran HbeAg berarti aktivitas virus yang sedang berlangsung dan kemampuan menularkan pada yang lainnya, sedangkan kehadiran anti-HBe menandakan suatu keadaan yang lebih tidak aktif dari virus dan resiko dan penularan yang lebih kecil. Pada Rapid Test B ini memiliki waktu yang sangat efisien untuk melihat hasil dari Rapid Test tersebut yaitu kisaran waktu 5-20 menit, namun pada Rapid Test ini memiliki sensitifitas sebesar 100% dan spesifisitasnya 100% berdasarkan evaluasi kementerian kesehatan. (BBLK Kemenkes RI tahun 2014).

## 3). Rapid TestB

Immunochromatografi test (ICT) HbsAg Rapid Test C ini memiliki jenis/model celup, merupakan uji imunokromatografi yang dapat mendeteksi antigen yang terdapat pada serum atau plasma. Prinsip dasarnya adalah adanya pengikatan antara antigen (HBsAG) dengan antibody (anti-HBs)

pada daerah test line, selanjutnya antibody akan berikatan dengan colloidal gold-labeled conjugate. Komplek yang terbentuk akan bergerak pada membran nitroselulosa. Kelebihan metode ini adalah waktu yang diperlukan untuk pengujian relatif singkat sekitar 2-10 menit dan hasil uji dapat dilihat secara langsung dan memiliki sensitifitas lebih dari 98% dan spesifisitasnya lebih dari 98%,. Pengujian dengan metode ini juga dapat dilakukan oleh setiap orang karena tidak memerlukan ketrampilan khusus seperti halnya dalam uji ELISA. Selain itu, metode ini dapat dijadikan sebagai pemeriksaan awal (screening test) untuk uji kualitatif dan dapat dikerjakan langsung di lapangan karena merupakan alat uji yang sederhana. Walaupun, metode ini lebih sederhana dan mudah dibandingkan metode lainnya, akan tetapi memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi terhadap antigen. Riset dan Pengembangan Penelitian tentang pembuatan alat diagnostik yang praktis berdasarkan metode imunokromatografi terhadap HBsAg telah banyak dilakukan dan dikembangkan. Penelitian ini meliputi penelitian pembuatan antibody monoklonal yang spesifik terhadap HBsAg, uji sensitivitas dan uji spesifisitas. Penelitian ini sangat diperlukan untuk membandingkan strip HBsAg yang dikembangkan dengan

alat diagnostic lainnya yang beredar di pasaran. Bisa memeriksakan HbsAg dalam satu langkah in-vitro yang dirancang bisa untuk deteksi kualitatif HBV yang berisi serum manusia atau plasma secara bersamaan. ( Peng, 2008.)

#### 4). Rapid Test A

Immunochromatografi test (ICT) HbsAg ENTEBE RPHA salah satu produk buatan PT. Hepatika kini telah dapat di hasilkan suatu reagensia buatan Hepatika Laboratorium di Mataram Lombok, yang di kenal dengan ENTEBE RPHA Cell bentuk dari rapid test ini ialah model celup. Mengingat reagensia ini merupakan kit diagnosis Hepatitis B yang pertama kali di hasilkan di dalam negeri, maka tertarik untuk mengetahui reagensia tersebut tujuan untuk mengetahui kekurangan ataupun kelebihan dan kemungkinan tindakan perbaikan ke depannya. Penelitian ini adalah suatu studi perbandingan ENTEBE RPHA Cell dengan suatu kit diagnosis yang sejenis yang telah di kenal luas yaitu HEPATEST-3, produksi Research Laboratorium, England. Untuk yang pertama kali di hasilkan di dalam negeri. Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa ENTEBE RPHA Cell memiliki sensitivitas sebesar 90,0% sedangkan spesifitasnya mencapai 93,3% dan nilai prediksi positifnya 72,0%. Selain itu perlu di lakukan perbaikan

mengenai pengawetan sel RPHA agar masa kadaluawarsa dapat lebih di perpanjang. Selain itu perlu di perbaikan pada buku panduan kerja, sehingga dapat di permudah dimengerti oleh pemakai kesimpulan dari produk ENTEBE RPHA Cell ini ialah dapat dianjurkan untuk di pakai dalam spesimen lokal sedangkan untuk perkembangan selanjutnya perlu perbaikan perbaikanguna kemudahan pada pemakainya. ( Yuwono, Djoko (1988) Perbandingan Mutu RPHA.

Deteksi virus hepatitis B dapat dilakukan dengan beberapa metode pemeriksaan, yaitu serologi dan *Polymerase Chain Reaction*(PCR). Uji serologi antara lain menggunakan metode ECLIA (*electrochemiluminescence immunoassay*) *Enzyme Immunoassay* (EIA), *Enzyme Linked Immunoassay* (ELISA), *Enzyme Linked Fluorescent Assay* (ELFA), *Immunochromatography Test* (ICT) atau *rapid test*, *Radio Immunoassay* (RIA), dan *Chemiluminescent microparticle Immunoassay* (CMIA). Sedangkan untuk mendeteksi DNA virus dapat digunakan PCR (Lin *et al.*, 2008).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Elise, RIA merupakan metode deteksi HBsAg yang paling sensitif dan paling spesifik pada tahun 1977. Seiring perkembangan teknologi, dilakukan penelitian dalam mendeteksi HBsAg



menggunkan ELISA yang dibandingkan hasilnya dengan RIA. Didapatkan bahwa ELISA memiliki peralatan yang lebih murah, tidak menggunakan radioisotop, dan reagensinya stabil dengan sensitifitas yang cukup baik jika dibandingkan dengan RIA (Lin *et al.*, 2008).

Hepatitis B adalah masalah kesehatan dunia terutama di negara negara berkembang termasuk Indonesia. Penyakit ini bersifat menular, biasanya melaluicairan tubuh dan bisa menyebabkan kematian apabila tidak ditangani dengan baik. Virusnya lebih mudah ditularkan dibandingkan dengan virus HIV, sehingga biasanya seseorang tidak menyadari kalau mereka mengidap penyakit ini. Sejak tahun 1987-1991 Departemen Kesehatan Telah melaksanakan pilot project vaksinasi Hepatitis B di Pulau Lombok Provinsi NTB, di mana kekerapan HBsAg kasus tertinggi di Indonesia dan kebijaksanaan ini diteruskan ke 27 provinsi lainnya. Bila program vaksinasi berhasil, diharapkan pada tahun 2016 (satu generasi kemudian) Hepatitis B bisa diberantas dan bukan merupakan persoalan kesehatan masyarakat lagi. Infeksi hepatitis B terjadi akut atau kronis. Biasanya infeksi akut terjadi pada orang dewasa, dan akan sembuh dalam beberapa bulan apabila kekebalan tubuh baik. Sedangkan infeksi kronis lebih sering terjadi pada anak-anak, sehingga prioritas program

vaksinasi hepatitis B adalah bayi serta anak-anak, karena jika bayi terkenainfeksi misalnya sewaktu persalinan karena ibunya menderita hepatitis B maka lebih dari 90% akan menjadi hepatitis kronik. Apabila yang terkena anak-anak yang lebih besar maka keadaan kronisitas menurun hanya menjadi 20-30% saja. Sedangkan jika orang dewasa yang terkena maka keadaan kronik hanya terjadi pada 4-50% saja. Pada tahun 2014 terdapat 28 kasus Hepatitis B, sedangkan untuk tahun 2015 dan 2016 tidak ditemukan kasus hepatitis B pada anak-anak.

Imunokromatografi test atau *rapid test* dapat disebut juga dengan uji strip. Metode ini tidak memerlukan peralatan untuk membaca hasilnya, tetapi cukup dilihat dengan mata, sehingga jauh lebih praktis. Prinsip dari metode ini adalah jika terdapat HBsAg pada serum sampel, maka antigen tersebut akan membentuk kompleks dengan koloid emas anti-HBs terkonjugasi pada strip. Cairan tersebut akan berpindah melewati membran nitroselulose dan berikatan dengan antibodi anti-HBs kedua yang immobilisasi pada membran, sehingga membentuk garis merah yang dapat dilihat. Apabila hasil test reaktif maka alat akan menunjukkan dua garis berwarna, yaitu pada area tes (P=positif) dan area kontrol (C=kontrol). Apabila hanya satu warna yang tergambar

pada area kontrol, maka interpretasinya yaitu nonreaktif. Sedangkan jika tidak ada warna yang terbentuk, maka pemeriksaan tersebut tidak valid.

Rapid Test HBsAg Proven Test<sup>TM</sup> dapat disimpan dalam suhu antara 4-30°C dan tidak boleh dibekukan. Stabilitas kit dapat bertahan selama 18 bulan. Sebelum digunakan, biarkan reagen pada suhu kamar dan harus digunakan secepatnya setelah kit dibuka dari pak. Pembacaan hasil ditunggu sampai 15 menit.



**Gambar 3.** *Rapid Test* (Sumber: [www.vistadx.net](http://www.vistadx.net))

*Immunoassay* adalah sebuah tes biokimia yang mengukur konsentrasi suatu substansi dalam cairan, biasanya berupa serum darah dengan melihat reaksi antibodi terhadap antigennya. Metode CMIA merupakan salah satu tes *immunoassay* yang paling peka dengan ketelitian dan ketepatan analisis yang baik dengan rentang pengukuran yang luas. Metode ini dapat mengukur reaktif HBsAg secara kuantitatif dan memberikan hasil yang akurat (Zacher, 2011).

## METODE PENELITIAN

### Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian komparatif yang bersifat membandingkan. Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan perbedaan dua atau lebih

fakta-fakta dan sifat-sifat objek yang diteliti berdasarkan kerangka pemikiran tertentu.

### Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian  
Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Biologi Politeknik Medika Farma Husada Mataram.
2. Waktu penelitian  
Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Mei 2019.

### Variabel Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah alat stick HbsAg digunakan untuk mendiagnosis Hepatitis B di Laboratorium Klinik Prodia Kota Mataram.

1. Variabel bebas dipenelitian ini adalah empat alat rapid test HbsAg.
  - Rapid Test A
  - Rapid Test B
  - Rapid Test C
  - Rapid Test D
2. Variabel terikat terkait penelitian ini adalah sensitivitas dan spesifitas rapid test empat alat tersebut dengan uji kualitatif.

### Populasi dan Sampel

1. Populasi dalam penelitian ini adalah pasien penderita hepatitis B.
2. Sampel yang digunakan adalah 10 darah pasien penderita hepatitis B yang diambil secara isidental.

### Instrumen Penelitian

Metode Rapid Test

Alat dan bahan

Prosedur kerja pemeriksaan HBsAg pada Laboratorium:

- a. Alat : Strip HBsAg
  - Rapid test A
  - Rapid test B
  - Rapid test C
  - Rapid test D

- b. Bahan: serum/plasma

Prosedur kerja : metode rapid test

- 1) ambil serum yang sudah di sentrifuge
- 2) buka kemasan strip HBsAg

3) Celupkan atau teteskan dengan pipet tetes atau mikropipet pada rapid test tersebut

Keterangan hasil: + (positif) bergaris dua pada strip, - (negatif) bergaris satu pada strip

a) Pelaksanaan: staf imunologi ECLIA

b) Tujuan : uji in-vitro immunoassay kualitatif untuk mengukur hepatitis B surface antigen HBsAg pada serum dan plasma.

c) Prinsip pemeriksaan: Sandwich

- Inkubasi pertama: 50 ul sampel, biotinlated monoclonal anti hbsag antibodi dan campuran dari monoklonal antibodi anti hbsag dan poliklonal antibodi anti hbsag berlabel ruthenium kompleks reaksi membentuk sandwich kompleks.
- Inkubasi kedua: setelah penambahan streptavidin-coated mikropartikel kompleks menjadi berkaitan dengan fase pada melalui intraksi biotin dan streptavidin.
- Campurkan reaksi yang terbentuk di hisap kedalam cell pengukur dimana mikropartikel secara magnetis ditangkap ke permukaan elektroda, substansi yang tidak berikan bibuang dengan cara di cuci ProCell M. Aplikasi tegangan ke elektroda menginduksi emisi chemilluminescent kemudian di ukur dengan photo multipiler.
- Hasil diukur secara otomatis menggunakan software dengan membandingkan sinyal electrohemiluminescent yang di peroleh dari reaksi sampel dengan sinyal nilai cut-off kalibrasi.

d) Metode : elektrohemiluminescence immunoassay (ECLIA).

e) Sampel :

- Serum (SST/
- Plasma (Li-heparin, EDTA, citrat, PST
- 300-500
- 2-8c

f) Reagen :

- HBsAg
  - M : Streptavidin-coated mikropartikel
  - R1: Anti-HbsAg-Ab-Ru(bpy)
- Stabilitas: HBsAg Reagen kita hasur di simpan pada suhu 2-8°C dengan posisi berdiri tegak.

g) Alat : COBAS e601

h) Langkah

- Sebelum memasukan reagen kit HBsAg ke dalam alat saat pertama kali, kocok perlahan botol mikropartikel tersupsensi dengan membalikan botol 30 x. Pastikan secara visual bahwa mikropartikel sudah tersupsensi sempurna.
- Masukan reagen HBsAg ke dalam alat.
- Order kalibar dan kontrol ( jika diperlukan )
- Ordr tes
- Run
- Jika pemeriksaan telah selesai keluarkan reagen kit dari alat dan simpan pada 2-8°C.

i) Interpretasi hasil :

- Validasi hasil: nilai kontrol harus masuk dalam rentang yang telah di tentukan di kit inset kontrol.
- Perhitungan:
- Interpretasi hasil: non reaktif : Cut-off indeks <0,9 : Borderline : Cut-off indeks  $\geq$  0,9 dan <1.0. : Reaktif : Cut-off Indeks  $\geq$  1.0

Pemeriksaan konfirmasi sesuai alur terlampir.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian telah dilakukan di Laboratorium Biologi Politeknik Medika Farma Husada Mataram pada bulan April 2019 dengan jumlah sampel sebanyak 10 pasien berjenis kelamin laki-laki, kriteria umur pada penelitian ini yaitu dewasa muda (23-25 tahun). Gambaran hasil penelitian disajikan dalam bentuk tabel di bawah ini :

**Tabel 1 Deskriptif Hasil Pemeriksaan Rapid Test Dan ECLIA.**

JENIS RAPID TES	HASIL PEMERIKSAAN ECLIA		JUMLAH
	Positif	Negatif	
RAPID TEST A	0 (0%)	10 (100%)	10 (100%)
RAPID TEST B	0 (0%)	10 (100%)	10 (100%)
RAPID TEST C	8 (80%)	2 (20%)	10 (100%)
RAPID TEST D	8 (80%)	2 (20%)	10 (100%)
ECLIA	8 (80%)	2 (20%)	10 (100%)
JUMLAH	24 (48%)	26 (62%)	50 (100%)

Berdasarkan tabel 4.1 terlihat bahwa rapid test A dan B tidak mampu mendeteksi adanya HBsAg pada serum penderita hepatitis B. Sedangkan Rapid test C dan D mampu mendeteksi adanya HBsAg pada penderita hepatitis B dimana hasil pemeriksaan HBsAg dengan menggunakan rapid test C dan D ditemukan ada 8 orang (80%) positif menderita hepatitis B dan 2 orang (20%) negatif. Hasil Pemeriksaan rapid test C dan D sesuai dengan hasil pemeriksaan menggunakan ECLIA dimana hasil pemeriksaan menggunakan ECLIA juga ditemukan ada 8 orang (80%) positif dan 2 orang (20%) negatif.

**Tabel 2 Perbandingan hasil Pemeriksaan HBsAg menggunakan metode Rapid tes A dengan Metode ECLIA sebagai gold standar.**

		ECLIA		JUMLAH
		POSITIF IF	NEGATIF IF	
RD T A	POSITIF F	0	0	0
	NEGATIF IF	8	2	10
JUMLAH		8	2	10

Sensitifitas :0%

Spesitifitas :0%

Nilai Prediksi + :0%

Nilai Prediksi - :0%

**Tabel 3 Perbandingan hasil Pemeriksaan HBsAg menggunakan metode Rapid tes B dengan Metode ECLIA sebagai gold standar.**

		ECLIA		JUMLAH
		POSITIF F	NEGATIF IF	
RD T B	POSITIF F	0	0	0
	NEGATIF IF	8	2	10
JUMLAH		8	2	10

Sensitivitas : 0%

Spesitifitas : 0%

Nilai Prediksi + : 0%

Nilai Prediksi - : 0%

**Tabel 4 Perbandingan hasil Pemeriksaan HBsAg menggunakan metode Rapid tes C dengan Metode ECLIA sebagai gold standar.**

		ECLIA		JUMLAH
		POSITIF F	NEGATIF IF	
RD T C	POSITIF F	8	0	8
	NEGATIF IF	0	2	2
JUMLAH		8	2	10

Sensitivitas : 100%

Spesitifitas : 99%

Nilai Prediksi + :100%

Nilai Prediksi - :100%

**Tabel 5 Perbandingan hasil Pemeriksaan HBsAg menggunakan metode Rapid tes D dengan Metode ECLIA sebagai gold standar.**

		ECLIA		JUMLAH
		POSITIF	NEGATIF	
RD	POSITIF	8	0	0
T D	NEGATIF	0	2	2
JUMLAH		8	2	10

Sensitivitas : 100%  
Spesifitas : 99%  
Nilai Prediksi + : 100%  
Nilai Prediksi - : 100%

Berdasarkan hasil pemeriksaan HBsAg dengan menggunakan berbagai jenis Rapid tes yang kemudian dikonfirmasi dengan menggunakan ECLIA diuji kenormalannya dengan menggunakan uji *Kolmogorov Smirnov*.

**Tabel 6 Hasil Uji Normalitas *Kolmogorov Smirnov***

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test	
N	50
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,000

Berdasarkan tabel 4.6 menunjukkan bahwa hasil uji normalitas *Kolmogorov Smirnov* didapatkan nilai signifikansi (Asymp. Sig 2-Tailed) sebesar  $0,000 < 0,05$  yang artinya data terbukti tidak berdistribusi normal sehingga uji dilanjutkan ke uji non parametrik *Kruskal Wallis Test*.

**Tabel 7 Hasil Uji Homogenitas *Levene***

Test of Homogeneity of Variances	
Sig.	0,000

Berdasarkan tabel 4.7 menunjukkan bahwa hasil uji homogenitas *Levene* didapatkan nilai signifikansi (Sig.) sebesar  $0,000 < 0,05$  yang artinya variabel data tersebut tidak homogenitas.

Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas diketahui bahwa data tidak

berdistribusi normal dan tidak homogen, sehingga uji statistik dilanjutkan dengan menggunakan uji *Kruskal Wallis* untuk mengetahui perbedaan antara rapid tes A, B, C dan D.

**Tabel 8 Hasil Uji *Kruskal Wallis***

Test Statistics <sup>a,b</sup>	
Asymp. Sig.	0,000

Berdasarkan tabel 4.8 Menunjukkan hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai signifikansi (Asymp. Sig.) sebesar  $0,000 < 0,05$  yang artinya data tersebut berbeda secara signifikan atau berbeda bermakna.

Untuk mengetahui perbedaan secara bermakna antara rapid tes, maka dilakukan uji post hoc (LSD)

**Tabel 9 Hasil Uji *Post Hoc (LSD)***

Multiple Comparisons		
(I) Jenis Alat Pemerik saan	(J) Jenis Alat Pemeriksaan	Sig.
Rapid Test A	Rapid Test C	0,000
	Rapid Test D	0,000
	ECLIA	0,000
Rapid Test B	Rapid Test C	0,000
	Rapid Test D	0,000
	ECLIA	0,000

Berdasarkan tabel 4.9 teralihat bahwa Rapid Test A berbeda bermakna dengan Rapid Tes C, D, dan ECLIA, sedangkan Rapid Test B berbeda bermakna dengan C, D, dan ECLIA, didapatkan hasil yang berbeda tetapi bermakna.

## PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei 2019. Pemeriksaan dilaksanakan di Laboratorium Klinik Prodia Mataram dengan tujuan untuk mengetahui rapid test yang lebih direkomendasikan untuk digunakan dalam pemeriksaan HBsAg. Sampel dalam penelitian ini sebanyak 10 orang yang didiagnosa menderita hepatitis B.



Berdasarkan hasil penelitian ini (tabel 1) terlihat bahwa rapid test A dan B tidak mampu mendeteksi adanya HBsAg pada serum penderita hepatitis B. Sedangkan Rapid test C dan D mampu mendeteksi adanya HBsAg pada penderita hepatitis B dimana hasil pemeriksaan HBsAg dengan menggunakan rapid test C dan D ditemukan terdapat 8 orang (80%) positif menderita hepatitis B dan 2 orang (20%) negatif. Hasil pemeriksaan menggunakan ECLIA juga ditemukan terdapat 8 orang (80%) positif dan 2 orang (20%) negatif. Hasil pemeriksaan konfirmasi dengan menggunakan ECLIA yang positif menderita Hepatitis B ini memiliki kesamaan dengan hasil pemeriksaan Rapid C dan D, yang berarti bahwa Rapid C dan D memiliki kemampuan yang sama dengan ECLIA dalam mendeteksi penyakit Hepatitis B.

Untuk mengetahui perbedaan pada masing-masing hasil uji rapid test pada penelitian ini dilakukann uji statistik menggunakan kruskal wallis diketahui nilai signifikansi Berdasarkan tabel 4.8 Menunjukkan hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai signifikansi (Asymp. Sig.) sebesar  $0,000 < 0,05$  yang artinya data tersebut berbeda secara signifikan atau berbeda bermakna. Untuk mengetahui perbedaan secara bermakna antara rapid tes, maka dilakukan uji *Post Hoc* (LSD). Setelah dilakukan uji *Post Hoc* didapatkan hasil berdasarkan tabel 9 terlihat bahwa Rapid Test A berbeda bermakna dengan Rapid Tes C, D, dan ECLIA, sedangkan Rapid Test B berbeda bermakna dengan C, D, dan ECLIA, didapatkan hasil yang berbeda tetapi bermakna.

Hasil pemeriksaan 10 pasien yang didiagnosa menderita hepatitis B dengan menggunakan rapid test A dan B (tabel 2 dan tabel 3) tidak didapatkan hasil yang positif atau 0%, namun setelah dikonfirmasi dengan menggunakan pemeriksaan ECLIA didapatkan 8 sampel

yang positif dan 2 negatif. Ketidakmampuan Rapid tes A dan Rapid tes B dalam mendeteksi adanya HBsAg pada serum penderita hepatitis B kemungkinan disebabkan karena antigen yang terdapat didalam darah pasien penderita hepatitis B tersebut rendah/sedikit. Selain itu juga rapid tes A juga diketahui memiliki nilai sensitivitas 90%, sensitifitas 93,3% dan nilai prediksi positif 72% (Yuwono D., 1988). Sedangkan rapid tes B diketahui memiliki nilai sensitivitas 98%, sensitifitas 98%. Kelemahan pada rapid test A tersebut pada dasarnya dapat diantisipasi dalam mengambil sampel pasien. Selain itu perlu dilakukan perbaikan mengenai pengawetan dan perlu di perbaikan pada buku panduan kerja, sehingga dapat dipermudah dimengerti oleh pemakai dianjurkan untuk dipakai dalam spesimen lokal sedangkan untuk perkembangan selanjutnya perlu perbaikan perbaikanguna kemudahan pada pemakainya (Yuwono, D., 1988).

Hasil pemeriksaan tersebut kemudian dikonfirmasi dengan menggunakan ECLIA juga didapatkan 8 orang (80%) positif dan 2 orang negatif. Kemampuan rapid tes C dan rapid tes D dalam mendeteksi adanya HBsAg pada serum penderita hepatitis B disebabkan karena rapid tes C mempunyai sensitivitasnya sebesar 100% dan spesitifitas sebesar 99% dan mampu mendeteksi pada tingkat yang sama atau lebih tinggi dari 1 ng / ml. Berdasarkan CTK BIOTECH (2014) diketahui bahwa rapid test C ini memiliki waktu yang sangat efisien dalam pemeriksaannya yaitu kisaran 2-10 menit untuk membaca hasil pemeriksaan. Pada rapid test D memiliki waktu 2-15 menit untuk membaca hasil dari pemeriksaan.

## KESIMPULAN

Hasil penelitian ini didapatkan perbedaan dua alat rapid test dengan

merek A dan B memiliki perbedaan dengan C dan D sedangkan pada rapid test C dan D memiliki hasil yang sama dengan ECLIA, pada rapid test A dan B tidak didapatkan hasil yang positif atau 0% dan nilai negatif sebanyak 100%. Sedangkan pada rapid test C dan D memiliki nilai yang sama dengan ECLIA dan hasil yang sama positif sebanyak 80% dan negatif sebanyak 20%.

#### **SARAN**

Bagi mahasiswa/i dan masyarakat untuk mengetahui alat rapid test yang direkomendasikan dan bagus untuk digunakan dalam pemeriksaan HbsAg. Bagi instansi kesehatan agar menggunakan rapid test yang hasilnya sama dengan ECLIA sebagai Gold Standar.

#### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Terimakasih kami ucapkan kepada direktur Politeknik Medica Farma Husada Mataram yang telah memberikan dukungan kepada kami untuk melaksanakan penelitian ini.

#### **REFERENSI**

- Ganem D, Prince AM. 2004. Hepatitis B Virus Infection: Natural History and Clinical Consequences. *The New England Journal of Medicine*. 350(11):1118-29.
- Hadziyannis E. 2013. Quantification of HBsAg in serum: characteristics of the assays. *OA Hepatology*. 1(1):1-6.
- Hasyim, wahid. 2010. *Teknologi GPS dan Citra Satelit*. Malang: Universitas Brawijaya
- Lee HJ, Kim SY, Lee SM, Heo J, Kim HH, Chang CL, et al.. 2012. Elecsys hepatitis B surface antigen quantitative assay: Performance evaluation and correlation with hepatitis B virus DNA during 96 weeks of follow-up in chronic hepatitis B patients. *Annals of Laboratory Medicine*. hlm. 42025. Lin
- Lin Y, Wang Y, Loua A, Day G, Qiu Y, Nadala EC, et al.. 2008. Evaluation of a new hepatitis B virus surface antigen Rapid Test with improved sensitivity. *Journal of Clinical Microbiology*. 46(10):3319-24.
- Mustafa S, Kurniawaty E. 2013. *Manajemen gangguan saluran cerna panduan bagi dokter umum*. Lampung: Anugrah Utama Raharja(Aura).
- Price, S.A., dan Wilson, L. M., 2005, *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*, Edisi 6, Vol. 2, diterjemahkan oleh Pendit, B. U., Hartanto, H., Wulansari, p., Mahanani, D. A., Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- World Health Organization. 2001. *Hepatitis B Surface Antigen Assays: Operational Characteristics*.
- World Health Organization. 2002. *Hepatitis B. Department of Communicable Diseases Surveillance and Response*.
- Zacher BJ, Moriconi F, Bowden S, Hammond R, Louisirirochanakul, Phisalprapa P, et al.. 2011. Multicenter evaluation of the elecsys hepatitis B surface antigen quantitative assay. *Clinical and Vaccine Immunology*. 18(11):1943-50
- Rubin E, farber JL ed. *Patologi* 2nd. 1994)
- BBLK Kemenkes RI tahun 2014
- Peng, F., Z. Wang, S. Zhang, R. Wu, S. Hu, Z. Li X.Wang, dan D. BI. 2008.)
- Yuwono, Djoko (1988) *Perbandingan Mutu RPHA.*)