

**Perbandingan Hasil Pemeriksaan *Antinuclear Antibodies* dengan Metode Imunofluoresens dan Metode *Elisa* pada Penderita Tersangka *Systemic Lupus Erythematosus* di Rumah Sakit Dokter Hasan Sadikin Bandung**

***Penny Setyawati Martioso***

*Bagian Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha*

**Abstrak**

Penyakit *Systemic lupus erythematosus* (SLE) khas ditandai oleh adanya antibodi antinuklear (ANA). Identifikasi ANA sangat penting untuk diagnosis dan penatalaksanaan penderita penyakit autoimun. Tujuan penelitian ini adalah membandingkan validitas pemeriksaan ANA metode imunofluoresens (FANA) dan Metode ELISA (ANA-ELISA) dengan menghitung sensitivitas, spesifisitas, nilai prediksi positif (NPP) dan nilai prediksi negatif (NPN), serta *coefficient of agreement*  $\hat{k}$ .

Enam puluh wanita tersangka penderita penyakit SLE, yang memenuhi 2 atau 3 dari 11 kriteria *American College of Rheumatology* (ACR) 1997, berusia 15-45 tahun, dari Bagian Ilmu Penyakit Dalam Rumah Sakit Umum Dokter Hasan Sadikin (RSHS) Bandung, dipilih untuk turut serta dalam penelitian ini. ANA dalam serum seluruh penderita diidentifikasi dengan metode FANA dan ANA-ELISA kualitatif. Data dianalisis dengan uji diagnostik.

Ada 40 orang didiagnosis sebagai penderita penyakit SLE dengan hasil pemeriksaan ANA metode FANA 39 positif dan ANA-ELISA 38 positif. Validitas pemeriksaan FANA dibandingkan dengan ANA-ELISA adalah sebagai berikut: Sensitivitas 97,5% : 95%; Spesifitas 20% : 45%; NPP 70,9% : 77,5%; NPN 80% : 80,8% ;  $\hat{k}$  0,215467 : 0,449409.

Kesimpulan: Sensitivitas metode pemeriksaan FANA dan ANA-ELISA adalah tinggi, tetapi ANA-ELISA lebih spesifik dan signifikan ( $\hat{k}$  : 0,449409;  $p$  : 0.0001670) pada diagnosis penderita penyakit *Systemic lupus erythematosus*.

**Kata kunci:** ANA, FANA, ANA-ELISA, SLE

**Abstract**

*Systemic lupus erythematosus* (SLE) is characterized by the presence of anti-nuclear antibodies (ANAs). The identification of ANA has considerable importance in diagnosis and management of patients with autoimmune diseases. The aims of this study were to compare the validity of ANA in the screening of SLE by estimated sensitivity, specificity, positive predictive values (PPV) and negative predictive values (NPV), and coefficient of agreement  $\hat{k}$  between FANA and ANA-ELISA.

*Sixty female outpatients suspected SLE, who fulfilled 2 or 3 of 11 criterias American College of Rheumatology (ACR) 1997, aged between 15-45 years old, from the Department of Internal Medicine Dokter Hasan Sadikin General Hospital (RSHS) Bandung were selected for this study. In this study, antibodies to nuclear antigens in all patients serum specimens were identified by qualitative FANA and ANA-ELISA. The data was analyzed by diagnostic test.*

*The diagnosis of SLE was established in 40 patients, 39 had FANA positive, 38 had ANA-ELISA positive. The validity of FANA vs ANA-ELISA were: Sensitivity 97,5% vs 95%; Specificity 20% vs 45%; PPV 70,9% vs 77,5%; NPV 80% vs 80,8%;  $\hat{k}$  0,215467 vs 0,449409.*

*Conclusions: The Sensitivity of the two methods were high, but ANA-ELISA was more spesific and significant ( $\hat{k}$  : 0,449409;  $p$ : 0.0001670) in diagnosis of patients with Systemic lupus erythematosus.*

**Key words:** ANA, FANA, ANA-ELISA, SLE

## Pendahuluan

*Systemic Lupus Erythematosus* (SLE) adalah penyakit autoimun multi-sistem akibat kerusakan jaringan. Penyakit SLE khas ditandai oleh kerusakan pembuluh darah yang terjadi secara berulang di seluruh tubuh. Penyakit SLE terjadi karena penumpukan kompleks imun dan antibodi, terutama pada jaringan vaskuler.<sup>1,2</sup> Manifestasi klinik penyakit SLE dapat ringan hingga berat.<sup>1,2,3</sup>

*Antinuclear antibody* (ANA) adalah antibodi yang sering ditemukan dalam serum dan jaringan penderita penyakit SLE. ANA adalah sekelompok autoantibodi, antara lain anti dsDNA, anti Smith, anti RNP, anti Ro/SS-A dan anti La/SS-B, masing-masing mempunyai sifat spesifik terhadap antigen determinannya, yang berasal dari inti sel jaringan yang rusak.<sup>4</sup>

Pemeriksaan ANA adalah pemeriksaan laboratorium yang

paling sensitif untuk mendeteksi penyakit SLE, dengan sensitivitas 95%.<sup>4,5</sup> Pemeriksaan ANA dilakukan secara rutin pada uji saring, diagnosis, dan pemantauan berbagai penyakit jaringan ikat, terutama penyakit SLE.<sup>7,8</sup> Anti-dsDNA adalah imunoglobulin spesifik terhadap antigen dsDNA (*native DNA*) inti sel.<sup>9</sup> Autoantibodi ini mempunyai spesifisitas tinggi untuk penyakit SLE, yaitu sebesar 90%,<sup>5,6,9,10,11,12</sup> tetapi hanya ditemukan pada sekitar 60-90% penderita.<sup>5</sup>

Metode *indirect fluorescent antibody* (IFA) telah digunakan secara luas untuk mendeteksi ANA dalam serum penderita berbagai penyakit jaringan ikat, yang dikenal sebagai *fluorescent antinuclear antibody* (FANA) test.<sup>8</sup> Pemeriksaan FANA dapat membuktikan bahwa SLE adalah penyakit autoimun.<sup>14</sup> Namun hasil pemeriksaan FANA memiliki keterbatasan, yaitu

sub-jektif, memerlukan tenaga lebih banyak dengan risiko *human error* yang tinggi.<sup>12</sup>

Pemeriksaan ANA dengan metode *Enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) yaitu ANA-ELISA, akhir-akhir ini telah dikembangkan untuk uji saring penderita-penderita penyakit jaringan ikat. Pemeriksaan ANA-ELISA digunakan untuk mendeteksi antibodi secara tidak langsung, menggunakan label enzim dan zat kromogen sebagai indikator reaksi.<sup>13</sup> Prinsip pemeriksaan ANA-ELISA adalah *Sandwich-ELISA*. Kelebihan pemeriksaan dengan metode ANA-ELISA yaitu hasil pemeriksaan bersifat objektif, meminimalkan risiko *human error*, kurang membutuhkan tenaga trampil dan ketelitian pemeriksa, sebab semua prosedur dikerjakan secara automasi oleh alat.<sup>14</sup>

Tujuan penelitian ini adalah untuk membandingkan validitas dan kemaknaan metode ANA-ELISA dibandingkan dengan metode FANA pada penderita penyakit *Systemic Lupus Erythematosus*.

### Subjek dan Metode Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian uji diagnostik dengan rancangan *cross sectional study*.<sup>15,16,17</sup> Ukuran sampel n sebesar 60, dihitung dengan rumus Lemeshow untuk menentukan persentase yang ditentukan berdasarkan tingkat kepercayaan 95% dan presisi 10%, dengan taksiran persentase ANA positif sebesar 83%.<sup>18</sup> Subjek penelitian dikumpulkan secara *sampling*

*from consecutive admissions* dari bulan Oktober 2002 sampai dengan Maret 2003 hingga jumlah sampel terpenuhi.

Subjek penelitian adalah penderita yang berobat ke Poliklinik Bagian Ilmu Penyakit Dalam (IPD) Wanita RSHS Bandung dan oleh dokter IPD didiagnosis sebagai tersangka penderita penyakit SLE, yang memenuhi kriteria inklusi sebagai berikut:

- ❖ Wanita usia 15-45 tahun
- ❖ Penderita tersangka SLE yang baru pertama kali berobat di Poliklinik IPD wanita RSHS Bandung karena keluhan yang berhubungan dengan SLE
- ❖ Belum pernah didiagnosis sebagai penderita penyakit artritis reumatoid, skleroderma, polimiositis, atau sindrom Sjögren
- ❖ Minimal memenuhi 2-3 kriteria *American College of Rheumatology* 1997
- ❖ Tidak sedang menderita penyakit sirosis bilier
- ❖ Tidak sedang menderita penyakit tbc atau penyakit jantung rematik kronis
- ❖ Belum pernah mendapat terapi obat immunosupresif jangka panjang
- ❖ Sebelum keluhan timbul tidak mengkonsumsi obat-obatan golongan sulfa, *hidralazin*, *procaïnamid*, *isoniazid*, *D.Penicillina-min* atau *griseofulfin*
- ❖ Bersedia turut serta penelitian ini dan menandatangani *informed consent*.

Penderita tersangka penyakit SLE dirujuk ke Laboratorium

Imunologi Klinik RSHS oleh dokter IPD untuk pemeriksaan ANA. Semua bahan pemeriksaan yaitu 5 ml darah vena diambil, kemudian didiamkan selama 30 menit hingga membentuk bekuan. Kemudian darah disentrifugasi dengan kecepatan 500 RPM selama 15 menit. Setiap BP serum yang terbentuk dibagi-bagi ke dalam 3 buah *Eppendorf tube*, 1 tabung untuk pemeriksaan FANA sedangkan 2 tabung lainnya disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  hingga memenuhi jumlah yang telah ditentukan. Setelah jumlah sampel terpenuhi, setiap BP serum diambil 1 tabung, dicairkan di suhu ruang, untuk kemudian diperiksa ANA-ELISA dan anti-dsDNA secara otomatis menggunakan alat fotometer. Hasil pemeriksaan metode tersebut diuji terhadap hasil diagnosis akhir dokter spesialis IPD RSHS Bandung berdasarkan kriteria ACR 1997 sebagai standar emas. Kriteria diagnosis penyakit SLE ditegakkan bila ditemukan 4 kriteria ACR 1997 untuk diagnosis penyakit SLE dalam suatu periode pemantauan. Pada penelitian ini anti-dsDNA diperiksa dengan metode ELISA

untuk membantu penegakan diagnosis penyakit SLE.

Data dianalisis dengan uji diagnostik menggunakan tabel  $2 \times 2$  untuk menghitung sensitivitas, spesifisitas, nilai prediksi positif (NPP), nilai prediksi negatif (NPN). *Coefficient of agreement* ( $\hat{k}$  = kappa) dihitung menggunakan tabel proporsi  $2 \times 2$  kemudian kemaknaan  $\hat{k}$  diuji dengan uji Z.<sup>15,19</sup>

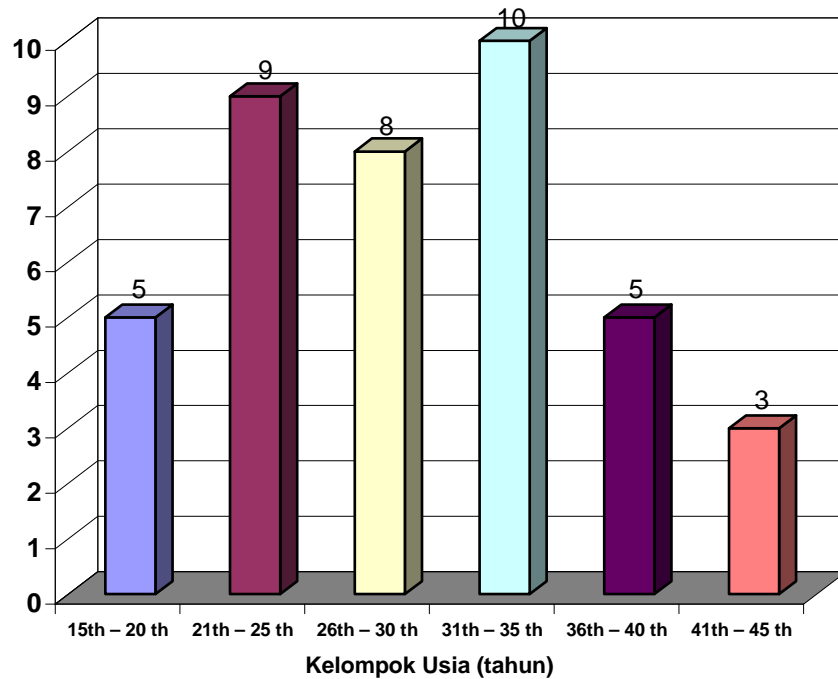
### Hasil Penelitian

Terdapat 60 orang Subjek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan didiagnosis sebagai tersangka penderita penyakit SLE. Empatpuluh orang dari 60 penderita tersangka penyakit SLE, didiagnosis sebagai penderita penyakit SLE dan 20 orang bukan penderita penyakit SLE. Duapuluh orang didiagnosis sebagai bukan penderita penyakit SLE, yaitu: artritis reumatoid (RA) 7 orang, artritis 5 orang dan drug lupus eritematosus (DLE) 2 orang.

Karakteristik penderita penyakit SLE pada penelitian ini, berdasarkan rerata usia, rentang usia, simpang baku dan median usia (Tabel 1):

Tabel 1 Karakteristik Penderita Penyakit SLE Berdasarkan Rerata Usia, Rentang Usia dan Simpang Baku

Subjek Penelitian	Rentang usia (tahun)	Rerata usia (tahun)	Simpang baku (tahun)	Median (tahun)
Penderita SLE	17 - 44	29,50	7,26	28



**Gambar 1. Distribusi Penyakit SLE Menurut Kelompok Usia Penderita**

**Keterangan Gambar 1:**

Hasil pengamatan terhadap 40 penderita penyakit SLE menunjukkan insidensi penyakit SLE tertinggi terdapat pada kelompok usia 31-35 th, yaitu sebanyak 10 (25%) penderita. Mulai kelompok usia 15-20 th sampai kelompok usia 41-45 th, jumlah penderita meningkat sesuai dengan peningkatan usia, setelah mencapai jumlah terbesar terjadi penurunan ke jumlah paling kecil yaitu kelompok usia 41-45 th

Rentang usia penderita SLE pada penelitian ini 17-44 tahun, dengan rerata dan simpang baku  $29,50 \pm 7,26$  (tahun) serta median usia 28 tahun. Rentang usia pada penelitian ini (17-44 tahun) juga sesuai dengan hasil penelitian Sinha *et al* (1990) dan Baratawidjaja (1995) yang mendapatkan 90% penyakit SLE menyerang wanita usia 15-45

tahun.<sup>20,21</sup> Distribusi penyakit SLE menurut hasil penelitian ini meningkat sesuai dengan meningkatnya usia, kemudian menurun kembali pada kelompok usia yang lebih tua. Penyakit SLE terutama menyerang kelompok usia 21-35 tahun.<sup>21</sup>

Hasil penelitian ini mendapatkan bahwa distribusi penyakit SLE tertinggi terdapat pada

kelompok usia 30-35 tahun, yaitu sebesar 25%.

**Diskusi**

Penelitian ini mendapatkan sensitivitas pemeriksaan FANA (97,5%) lebih tinggi dari ANA-ELISA (95%), tetapi spesifisitas ANA-ELISA (45%) lebih tinggi dari FANA (20%). Hal ini mungkin disebabkan oleh karena kemurnian antigen yang digunakan tidak sama atau sensitivitas pemeriksaan terlalu tinggi akibat intensitas penyerapan zat imunofluoresens meningkat sehingga dapat menimbulkan hasil positif palsu (konsentrasi imunofluoresens pekat akibat penyimpanan lama). Faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan, antara lain jenis dan kemurnian antigen, perbedaan metode pemeriksaan, juga keahlian dan ketrampilan pemeriksa, serta stabilitas reagen.<sup>4,8,9</sup>

Selain pengaruh segi teknik analitik, perbedaan perbedaan populasi yang berbeda secara genetik, hormonal, budaya, sosial dan ekonomi serta lingkungan tempat tinggal juga dapat mempengaruhi hasil penelitian. Faktor-faktor tersebut dapat menjadi

pemicu timbulnya penyakit SLE.<sup>10,11,12,21</sup>

Wanita usia produktif memproduksi estrogen dalam jumlah relatif lebih tinggi dibandingkan dengan wanita usia remaja atau premenopause. Selain produksi estrogen pada wanita usia produktif relatif tinggi, kelompok wanita ini relatif lebih banyak menggunakan sediaan estrogen sebagai alat kontrasepsi.

Maka dapat disimpulkan bahwa dalam tubuh wanita usia produktif didapatkan kadar estrogen yang relatif lebih tinggi dibandingkan dengan wanita usia remaja atau premenopause dan menopause.<sup>20,21</sup> Hal ini memperkuat anggapan bahwa estrogen merupakan suatu imunomodulator/immunostimulator terhadap fungsi sistem imun humoral. Estrogen bekerja menekan fungsi sel Ts dengan cara mengikat reseptornya, sehingga sel lumpuh dan tidak ada yang mengendalikan sel limfosit B untuk memproduksi autoantibodi, akibatnya terjadi peningkatan produksi autoantibodi. Estrogen mempunyai efek meningkatkan progresivitas penyakit autoimun.<sup>21</sup>

**Tabel 4.5 Perbandingan Hasil Pemeriksaan ANA Metode FANA dengan ELISA**

Pemeriksaan	Seropositif	Sensitivitas	Spesifisitas	NPP	NPN	$\hat{k}$
FANA	91,67%	97,500%	20,000%	70,910%	80,000%	0,215467
ANA-ELISA	81,67%	95,000%	45,000%	77,551%	81,818%	0,449409

## Kesimpulan

Sensitivitas metode pemeriksaan FANA dan ANA-ELISA adalah tinggi, tetapi ANA-ELISA lebih spesifik dan signifikan ( $\hat{k}$ : 0,449409;  $p$ : 0,0001670) pada diagnosis penyakit *Systemic lupus erythematosus*. Jadi ANA-ELISA lebih bermakna untuk menunjang diagnosis penyakit *Systemic lupus erythematosus*.

Pemeriksaan ANA-ELISA dapat digunakan sebagai pemeriksaan alternatif untuk pemeriksaan ANA.

## Daftar Pustaka

1. **Nasution AR, Kasjmir YI.** 1995. Masalah penyakit lupus eritematosus sistemik (LES) di RSUPN Cipto Mangunkusumo Jakarta. Dalam: AR 1 & RP Sidabutar (Eds.), *Simposium nasional I systemic lupus erythematosus dan pembentukan perhimpunan SLE Indonesia*. Jakarta: Panitia Pendidikan Berkesinambungan Bagian IPD FKUI/RSCM
2. **Simon H, Etkin MJ, Godine JE, et al.** 1999. *Systemic lupus erythematosus*. WebMD Corporation: [www.well-connected.com](http://www.well-connected.com).
3. **Benjamini E, Sunshine G, Leskowitz S.** 1996. *Immunology a short course: Autoimmunity*, 3<sup>rd</sup> ed. New York Chichester Brisbane Toronto Singapore: A John Wiley & Sons Inc. Publication.
4. **MedicineNet.com.** 2001. *Anti nuclear antibody test*. <http://www.focusonarthritis.com>.
5. **Zolg JW,** 1997. *Autoimmunity: An introduction to clinical aspects and laboratory diagnosis procedures*. Basel: F. Hoffmann-La Roche Ltd.
6. **Wallach J.** 2000. Laboratory tests for collagen / vascular / rheumatic diseases. In: J Wallach (Ed.), *Interpretation of Diagnostic Tests*, 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia New York London: Lippincott Williams & Wilkins.
7. **Kern P, Kron M, Hiesche K.** 2000. Measurement of antinuclear antibodies: Assessment of different test systems. *Clin & Diag Lab Immunol* 7;1:72-8
8. **Scimedx Corporation.** 2001. Antinuclear antibody by IFA. <http://www.8.com/ana.htm>.
9. **National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases (NIAMS).** 1999. Laboratory Tests Used To Diagnose and Evaluate SLE. Bethesda, Maryland. <http://www.nih.gov/niams/healthinfo/lupusguide/chp3.htm>.
10. **Bobrove A.** 1994. Rheumatic disease. In: JP Gosling, LV Basso (Eds.), *Immunoassay: Laboratory analysis and clinical applications*. Boston London Singapore Sydney Toronto Wellington : Butterworth-Heinemann.
11. **Gladman DD, et al.** 1999. Guidelines for referral and management of systemic lupus erythematosus in adults. *Arthritis and Rheumatism*, 42(9):1785-96.
12. **Kaye BR.** 2001. Antinuclear Antibody Tests and SLE: Understanding antinuclear antibody tests anti-nuclear antibody tests and SLE. <http://www.lupusnet.ucalgary.ca/ihnet/module1.htm>
13. **Peene I, Meheus L, Veys EM, De Keyser F.** 2001. Detection and identification of antinuclear antibodies (ANAs) in a large and consecutive cohort of serum samples referred for ANA testing. *Ann Rheum Dis*; 60:1131-6.
14. **Roitt I, Brostoff J, Male D.** 2001. Autoimmunity and autoimmune disease. In: I Roitt, J Brostoff, D Male (Eds.), *Immunology*, 4<sup>th</sup> ed. St Louis Baltimore Boston Chicago London

- Philadelphia Sydney: Mosby-Year Book Europe Limited.
15. **Browner WS, Newman TB, Cummings SR.** 1988. Designing a new study: III. Diagnostic Test. In: SB Hulley, SR Cummings (Eds.), *Designing clinical research: An epidemiologic approach*. Baltimore: Williams & Wilkins.
  16. **Hulley SE, Cummings SR.** 1988. *Designing clinical research*. Baltimore Hongkong London Sydney: Williams & Wilkins.
  17. **Pusponegoro HD, Wirya IGNW, Pudjiadi AH, Bisanto J, Zulkarnain SZ.** 2002. Uji Diagnostik. Dalam: S Sastroasmoro, S Ismael (Ed.), *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis*, edisi ke-2. Jakarta: Bagian Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
  18. **Lemeshow S, Horner DW, Klar J, Iwaga SK.** 1992. Statistical methods for sample size determination. In: WHO. *Adequacy of sample size in health study*. Chichester New York Brisbane Toronto Singapore: John Wiley & Sons.
  19. **Ingelfinger JA, Mosteller F, Thibodeau LA, Ware JH.** 1983. *Biostatistics in clinical medicine*. New York Toronto London: Macmillan Publishing Co., Inc.
  20. **Sinha AA, Lopez MT, Mc Devitt HO.** 1990. Autoimmune diseases; the failure of self tolerance. *Science*; 248:1380-8.
  21. **Baratawidjaja K.** 1995. Aspek imunologis dan peranan pemeriksaan auto-antibodi pada SLE. Dalam: AR Nasution & RP Sidabutar (Eds.), *Simposium nasional I systemic lupus erythematosus dan pembentukan perhimpunan SLE Indonesia*. Jakarta: Panitia Pendidikan Berkesinambungan Bagian IPD FKUI/ RSCM.



