

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

**SUSUNAN PENGELOLA MAJALAH INDONESIAN JOURNAL OF
CLINICAL PATHOLOGY AND MEDICAL LABORATORY**

Pelindung (Patron)

Ketua Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Penasehat (Advisor)

Prof. Marsetio Donosepoetro, dr., Sp.PK(K)
Prof. Siti Budina Kresna, dr., Sp.PK(K)
Prof. Dr. Herman Hariman, dr., Sp.PK(K)
Dr. R. Darmawan Setijanto, drg., Mkes

Penelaah Ahli/Mitra Bestari (Editorial Board)

Prof. Hardjoeno, dr., Sp.PK(K)
Prof. Dr. Indro Handojo, dr., Sp.PK(K)
Prof. Dr. J B Soeparyatmo, dr., Sp.PK(K)
Prof. Riadi Wirawan, dr., Sp.PK(K)
Prof. Dr. A A G Sudewa, dr., Sp.PK(K)
Prof. Rahayuningsih, dr., Sp.PK(K), DSc
Prof. Chatar, dr., Sp.PK(K)
Prof. Tiki Pang, PhD
Prof. Dr. Krisnowati, drg., Sp.Pros

Penyunting Pelaksana (Managing Editors)

Prof. Dr. Prihatini, dr., Sp.PK(K), Prof. Marzuki Suryaatmadja, dr., Sp.PK(K), Dr. Adi Prijana, dr., Sp.PK(K),
Budiman, dr., Sp.PK(K), Dr. Kusworini Handono Kalim, dr., Mkes, Prof. Adi Koesoema Aman, dr., Sp.PK(K),
Dr. Rustadi Sosrosumihardjo, dr., DMM, MS., Sp.PK(K), Yuli Kumalawati, dr., Sp.PK(K),
Lia Gardenia Partakusuma, dr., Sp.PK, Dr. Ida Parwati, dr., Sp.PK, Dr. FM Yudayana, dr., Sp.PK(K),
Yuli Soemarsono, dr., Sp.PK, Brigitte Rina Aninda Sidharta, dr., Sp.PK, Tjokorde Gde Oka, dr., Sp.PK,
Prof. Dr. Krisnowati, drg., Sp.Pros

Asisten Penyunting (Assistants to the Editors)

Dr. Harsono Notopoero, dr., Sp.PK(K), Yolanda, dr., Sp.PK(K),
Dr. Sidarti Soehita, FHS, dr., MS, Sp.PK(K), Dr. Jusak Nugraha, dr., MS, Sp.PK,
Endang Retnowati, dr., MS, Sp.PK, Dr. Aryati, dr., MS, Sp.PK

Pelaksana Tata Usaha

Leonita Aniwati, dr., Sp.PK, Yetti Hernaningsih, dr., Sp.PK:
Tab. Siklus Bank Jatim Cabang RSU Dr. Soetomo Surabaya; No AC: 0323551651;
Email: pdspatklin_sby @telkom.net. (PDSPATKLIN Cabang Surabaya),
Bendahara PDSPATKLIN Pusat, RS PERSAHABATAN, Jakarta Timur, Tlp. 62-021-4891708, Fax. 62-021-47869943
Email: pds_patklin@yahoo.com

Alamat Redaksi (Editorial Address)

Laboratorium Patologi Klinik RSU Dr. Soetomo Jl. Prof. Dr. Moestopo 6–8 Surabaya Tlp/Fax. (031) 5042113,
Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Unair, Jl. Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya, Tlp (031) 5020251–3
Fax (031) 5022472, 5042113, Email: pdspatklin_sby @telkom.net.

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
 MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

DAFTAR ISI

PENELITIAN

Peningkatan Aminotransferase sebagai Penanda Cedera Hati pada Penderita Demam Dengue (<i>The Increase of Aminotransferase as Marker of Liver damage in Dengue Fever Patients</i>) Madina Sahnaz, Corriejati Rita	53-55
Paras Interleukin-18 Penderita Tuberkulosis Paru dan Perawat Sehat Berisikotuberkulosis (<i>Interleukin-18 Level in Lung Tuberculosis Patients and Nurses at Risk</i>) Sianny Herawati, J Nugraha	56-59
Pemetaan Perubahan (Mutasi) Virus Hepatitis B (<i>Mapping of Hepatitis B Virus Mutation</i>) Tonang DA, Rina AS, JB Suparyatmo	60-63
Prediksi Jumlah Sel Limfosit T Cd4+ Menggunakan Nilai Tlc (<i>Total Lymphocyte Count</i>) pada Penderita HIV/AIDS (<i>Prediction test of Cd4+ T Cells Using Total Lymphocyte Count (TLC) in Patients with HIV/AIDS</i>) Rostina, Suci Aprianti, Mansyur Arif	64-65
Albumin Kreatinin Penderita Hipertensi Hakiki (Esensial) (<i>Albumin Creatinine Ratio in Essential Hypertension Patients</i>) T. Wongso, Dewi LS, Z. Lubis	67-71
TELAAH PUSTAKA	
Imunosupresi untuk Pencangkokan Ginjal (<i>The Immunosuppression of Renal Transplantation</i>) Suprapto Ma'at	72-76
LAPORAN KASUS	
Leukemia Megakarioblastik Akut pada Seorang Anak (<i>Acute Megakaryoblastic Leukemia in a Child</i>) Nyoman Suci Widayastiti, Ima Arum Lestarini, Yetty Movieta Nancy, Umi S Intansari, R. Lindeman .	77-82
MENGENAL PRODUK BARU	
Deteksi Anti Glutamic Acid Decarboxilase/tyrosine Phosphatase (Anti GAD/IA ₂) pada Penderita DM Tipe 1 Anak (<i>Anti Glutamic Acid Decarboxylase/Tyrosine Phosphatase (Anti GAD/IA₂) Detection in Children Type I Diabetes Mellitus</i>) Pupa Wardhani, S Darmadi, M Faizi, Netty Harjantien	83-85
MANAJEMEN LABORATORIUM	
Mengenal Sistem Penerangan Laboratorium/Lis (<i>Lis/Laboratory Information System</i>) Prihatini	86-89
INFORMASI LABORATORIUM MEDIK TERBARU	90-92

MENGENAL PRODUK BARU

DETEKSI ANTI GLUTAMIC ACID DECARBOXILASE/TYROSINE PHOSPHATASE (ANTI GAD/IA₂) PADA PENDERITA DM TIPE 1 ANAK

(Anti Glutamic Acid Decarboxylase/Tyrosine Phosphatase (Anti GAD/IA₂) Detection in Children Type I Diabetes Mellitus)

Pupa Wardhani*, S Darmadi*, M Faizi**, Netty Harjantien**

ABSTRACT

Our study evaluated anti GAD/IA₂ levels in Type 1 DM patients in Dr. Soetomo Hospital Surabaya. We conducted cross sectional study, involving Type 1 DM patients that already been established (C-Peptide bellow normal). Patient's age range was from 2.8 years old to 17 years old, so they were regarded as children. We used anti GAD/IA2 reagents from Euroimmun which had basic principal EIA. Twelve patients was involved in this study. The average level of anti GAD/IA2 was 210.37 IU/mL. The Average level of anti GAD/IA2 was higher in female than male patients (227.38 IU/mL dan 162 IU/mL). All patients had anti GAD/IA2. This examination can be usefull for screening one who has high risk in developing type 1A DM, especially first degree relatives.

Key words: anti GAD/IA₂, type I DM

PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus (DM) adalah suatu penyakit yang ditandai dengan kadar glukosa yang tinggi, karena defisiensi sekresi insulin dan/atau abnormalitas kerja insulin. Penyakit kronis ini menyebabkan morbiditas, mortalitas dan membutuhkan biaya tinggi.¹ Terdapat dua kelompok DM yaitu DM tipe 1 dan DM tipe 2. DM tipe 1 dibagi menjadi DM tipe 1A dan 1B. DM tipe 1A timbul sebagai akibat kerusakan sel beta karena proses otoimun, sehingga terjadi defisiensi insulin. Sebagian besar tipe 1A terjadi pada anak-anak dan dewasa muda. Pada DM tipe 1B tidak disebabkan faktor otoimun, kerusakan sel beta terjadi tanpa penyebab yang jelas. DM tipe 2 banyak terjadi pada orang dewasa sebagai akibat resistensi insulin disertai gangguan kompensasi sekresi insulin.²

Kejadian (*insidens*) DM tipe 1 bervariasi. Kejadian tertinggi terdapat di Skandinavia, seperti di Finlandia kejadian DM tipe 1 mencapai 35/100.000 per tahun (Harison). Kejadian di daerah Pasifik (Jepang dan Cina) lebih rendah yaitu 3/100.000 per tahun. Kejadian di Amerika Serikat dan Eropa Utara antara 8 sampai 18/100.000.³ Kejadian DM tipe 1 di Indonesia 2,6/1000. Perbedaan ini disebabkan karena perbedaan faktor risiko alel HLA di antara kelompok etnis di daerah yang berbeda.⁴

Manifestasi DM tipe 1A adalah sebagai akibat dari sinergi beberapa faktor yaitu faktor genetik, lingkungan dan imunologis, menyebabkan kerusakan sel beta pankreas. Pada saat lahir, individu dengan kepekaan genetik mempunyai sel beta pankreas normal, namun akan menjadi rusak secara perlahan dalam hitungan bulan sampai tahun. Jumlah sel beta dan sekresi insulin akan menurun. Gejala klinis DM akan nampak apabila 80% sel beta pankreas telah mengalami kerusakan. Sisa sel beta tidak dapat mempertahankan toleransi glukosa. Proses otoimun dipicu oleh infeksi atau rangsangan lingkungan.⁴

Mekanisme terjadinya kerusakan sel beta belum diketahui secara pasti. Terdapat dugaan kerusakan disebabkan oleh karena metabolit *nitrit oxide*, apoptosis, dan sitotoksitas sel T CD 8. Molekul pankreas yang menjadi target proses otoimun adalah insulin, *glutamik acid decarboxilase* (GAD), ICA-512/IA2 (*homolog tyrosine phosphatase*), dan phogrin. Dari semua molekul tersebut hanya insulin yang merupakan antigen spesifik dari sel beta pankreas.⁵

Terdapat petanda imunologis yang timbul sebagai akibat proses otoimun. Petanda ini muncul setelah seorang individu terpapar terhadap faktor pemicu sebelum timbul manifestasi klinis DM (harison). Petanda imunologi pada DM tipe 1 yaitu otoantibodi islet cell, terdiri dari beberapa antibodi terhadap

* Departemen Patologi Klinik, **Departemen Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSU Dr. Soetomo Surabaya

molekul sel islet pankreas. Antibodi tersebut yaitu anti GAD, ICA-512/IA2 dan gangliosida sel islet. Antibodi anti GAD dan IA2 telah tersedia secara komersial. Peran pemeriksaan anti GAD/IA2 yaitu dapat membedakan jenis DM tipe 1 apakah tipe 1A atau 1B dan mengidentifikasi individu nondiabet yang berisiko menjadi DM tipe 1A. Antibodi anti islet cell teridentifikasi pada individu yang baru terdiagnosis DM tipe 1A sebanyak 75%. Antibodi ini juga dapat terdeteksi sebesar 5–10% pada penderita DM tipe 2. Pada saudara kandung penderita DM tipe 1A juga bisa dideteksi antibodi anti sel islet sebanyak 3–4%. Antibodi ini bersamaan dengan gangguan sekresi insulin setelah tes toleransi glukosa secara intravenous dapat menduga risiko terjadinya DM tipe 1A dalam 5 tahun (sebesar 50%), sedangkan tanpa gangguan sekresi insulin setelah tes toleransi glukosa maka dapat meramalkan risiko terjadinya DM tipe 1A sebesar 25%. Apabila sudah terjadi kerusakan sel beta secara menyeluruh, proses inflamasi akan berhenti, sel islet menjadi atrofi dan petanda imunologi menghilang.⁴

Informasi tentang pemeriksaan anti GAD/IA2 saat ini belum ada di Indonesia. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui kadar anti GAD/IA2 di penderita DM tipe 1A sehingga dapat memberi informasi tentang antibodi anti GAD/IA2 di Indonesia.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini adalah penelitian *cross sectional* secara *consecutive sampling*. Sebanyak 11 penderita DM tipe 1 diperiksa kadar anti GAD/IA2. Penderita tersebut dinyatakan menderita diagnosis DM tipe 1 ditegakkan berdasarkan kriteria WHO untuk DM dan kadar C-peptide di bawah rentang normal (0,9–7,1 ng/mL). Empat penderita saat diperiksa kadar anti GAD/IA2 dalam keadaan Keto Asidosis

Diabetik dan 7 penderita dalam kondisi stabil (kontrol rutin ke poliklinik). Bahan yang digunakan untuk pemeriksaan kadar anti GAD/IA2 dan insulin adalah serum. Waktu penelitian Juni 2007 sampai Januari 2008.

ELISA pool anti GAD/IA2: Pemeriksaan kadar anti GAD/IA2 menggunakan reagen dari Euroimmune. Prinsip pemeriksaan ini adalah ELISA, dan kadar anti GAD/IA2 dideteksi secara kuantitatif. Antigen yang digunakan yaitu *Human recombinant Glutamic Acid Decarboxilase*, isoform GAD65 dan *Human recombinant tyrosine phosphatase*. Sebanyak 50 µL sampel, kalibrator, kontrol positif dan negatif dimasukkan ke dalam sumuran *microplate* kemudian ditambahkan buffer sebanyak 25 µL. Plate kemudian ditutup dan di campur dengan penggoyang (*shaker*) 500 rpm selama 5 detik, selanjutnya diinkubasi selama 16–20 jam pada suhu 4–8 °C. Setelah inkubasi maka cairan dalam sumuran dibuang dan sumuran dicuci sebanyak 3 kali dengan buffer pencuci. Sebanyak 100 µL *biotin-labelled* anti GAD/IA2 ditambahkan kemudian diinkubasi selama 1 jam pada *microplate shaker* (500 rpm) dengan suhu 18–25 °C. Langkah selanjutnya adalah pencucian sumuran, dan dilanjutkan dengan penambahan 100 µL konjugat enzim peroksidase (*Peroxidase-labelled avidin*). Inkubasi dilakukan lagi selama 20 menit, setelah itu dilakukan pencucian. Ke dalam sumuran ditambahkan 100 µL substrat atau kromogen, dan diinkubasi selama 20 menit pada suhu ruang. Sebagai langkah terakhir ditambahkan larutan penghenti (stop solution). Pembacaan hasil reaksi dilakukan dengan menggunakan pembaca mikroelisa (*reader*) dengan panjang gelombang 450 dan 405 nm. Hasil di atas 450 IU/mL harus diulang dengan pengenceran 1 : 20. Hasil < 4 IU/mL dinyatakan negatif dan > 4 IU/mL dinyatakan positif.

C-Peptide: Pemeriksaan kadar C-Peptide menggunakan reagen dan alat dari DTC Immulite

Tabel 1. Karakteristik penderita dan kadar anti GAD/IA2

Pasien No	Jenis Kelamin	Umur	Anti GAD/IA2 (IU/mL)	Kondisi saat diperiksa
1	Perempuan	12	25	Stabil
2	Perempuan	11	25	KAD
3	Perempuan	16	45	Stabil
4	Perempuan	17	450	Stabil
5	Perempuan	5	457	KAD
6	Perempuan	9	453	KAD
7	Perempuan	10	386	Stabil
8	Perempuan	2,8	192,5	Stabil
9	Perempuan	13	5	Stabil
10	Laki-laki	9	355	Stabil
11	Laki-laki	17	126	KAD
12	Laki-laki	11	5	Stabil
Total		132,8	2524,5	
Rata-rata		11,06	210,37	

KAD : Ketoasidosis Diabetik

dengan prinsip pemeriksaan *Chemiluminescence EIA*. Rentang normal 0,9–7,1 ng/mL. Sampel berupa serum.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 11 penderita DM tipe 1 disertakan dalam penelitian ini terdiri dari 3 penderita laki-laki dan 9 penderita perempuan. Rentang umur penderita DM tipe I antara 2,8 sampai 17 tahun. Kadar C-Peptide penderita antara < 0,1 ng/mL sampai 0,74 ng/mL (data lengkap tidak ditampilkan). Semua Penderita (100%) memiliki anti GAD/IA2. Persentase ini lebih besar apabila dibandingkan dengan penelitian lain (75%). Tidak adanya pemetaan penderita DM tipe 1 secara lengkap, menimbulkan kesulitan untuk mengetahui persentase sebenarnya DM tipe 1A dan 1B. Karakteristik penderita dan hasil pemeriksaan terdapat pada tabel 1.

Rata-rata kadar anti GAD/IA2 pada penderita dengan KAD lebih tinggi dibandingkan dengan penderita DM tipe I pada kondisi stabil (rata-rata penderita KAD: penderita stabil; 262,5 IU/mL: 182,93 IU/mL). Hal ini disebabkan karena penderita tersebut masih baru terdiagnosis DM tipe 1 sehingga kadar anti GAD/IA2 masih tinggi. Apabila sudah terjadi kerusakan sel beta secara menyeluruh, proses inflamasi akan berhenti, sel islet menjadi atrofi dan petanda imunologi menghilang.⁴ Kadar anti GAD/IA2 yang tinggi nampaknya tidak selalu mencerminkan derajat keparahan penyakit, karena ada satu Penderita KAD dengan titer rendah 25 IU/mL.

Rata-rata kadar anti GAD/IA2 penderita laki-laki dan wanita adalah 162 IU/mL dan 227,38 IU/mL. Hal yang sesuai juga disebutkan pada penelitian Lindohlm,⁶ yang menyatakan kadar anti GAD/IA2 kelompok wanita lebih tinggi daripada laki-laki, namun pada kelompok usia yang berbeda (40–59 tahun). Pada populasi dewasa perbedaan kadar anti GAD/IA2 berdasarkan gender terjadi karena pengaruh hormon seks steroid atau GnRH. Sehingga masih

diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mencari penyebab perbedaan ini pada anak-anak.

SIMPULAN DAN SARAN

Seluruh penderita DM tipe 1 memiliki anti GAD/IA2 dengan kadar yang bervariasi. Penderita saat diperiksa terjadi KAD, memiliki kadar rata-rata anti GAD/IA2 lebih tinggi.

Pemeriksaan anti GAD/IA2 dapat dijadikan pemeriksaan rutin pada penderita DM tipe 1 atau seseorang yang diduga akan jatuh pada tipe I DM walaupun belum manifes.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kepada Laboratorium Klinik Utama Kedungdoro Surabaya, dan dr. Liana, dr. Binawati (PPDS.Pk/FKUA RSU Dr. Soetomo).

DAFTAR PUSTAKA

1. Kahn MI, Weinstock RS. In: McPherson RA, Pincus MR Ed. Carbohydrates in: Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 21ST Ed. Philadelphia USA, Saunders-Elsevier. 2007; 185–199.
2. Masharani U. Diabetes mellitus & hypoglycemia in 2007 current medical diagnosis & treatment. McPhee SJ, Tierney LM, Papadakis MA Ed. International Edition San Francisco, McGraw Hill, 46th ed. 2007; 1219–53.
3. Harinarayan CV, S. Srikantha, MMS. Ahuja. Childhood diabetes mellitus in developing countries—survey. INTNL. J. DIAB. DEV. COUNTRIES. 1990; 10: 37–40.
4. Alvin C. Powers. Diabetes mellitus in Harrison's Principle of internal medicine. Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL Ed. USA, Mc Graw Hill, 16th ed, 2005; 2165–80.
5. Greening JE, Timothy IM, Kotowicz KT, van Halteren AG, Roep BO, Klein NJ, Peakman M. Processing and presentation of the islet autoantigen GAD by vascular endothelial cells promote's transmigration of autoreactive T-Cells 1 DIABETES. MARCH, 2003; VOL. 52.
6. Lindholm E, Hallengren B, Agardh CD. Gender differences in GAD antibody - positive diabetes mellitus in relation to age at onset, C-peptide and other endocrine autoimmune diseases. Diabetes/Metabolism Research and Review. 2004; 12(2): 156–64.