

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Definisi Asma

Asma adalah inflamasi kronis pada saluran nafas yang melibatkan banyak sel dan elemen selular yang berperan pada inflamasi kronis tersebut, inflamasi kronis tersebut berhubungan dengan hiperresponsif yang disertai episode mengi berulang, sesak nafas, dada terasa berat, dan batuk. Gejala tersebut terjadi karena terbatasnya aliran udara dan gejala tersebut dapat reversibel secara spontan maupun dengan pengobatan (GINA, 2011).

Asma adalah penyakit yang heterogen, biasanya dikarakteristikan dengan inflamasi saluran napas yang kronis, itu ditunjukkan dengan riwayat gejala saluran napas seperti, mengi, napas pendek, dada terasa berat, dan batuk yang bervariasi dari waktu ke waktu dan dalam intensitas, bersama-sama dengan limitasi aliran udara ekspirasi (GINA, 2014).

Gejala tersebut terutama terjadi pada malam hari dan episodik tersebut berhubungan dengan obstruksi jalan nafas yang luas dan bervariasi yang reversibel spontan atau dengan pengobatan (PPDI, 2003).

#### 2.2. Epidemiologi Asma

Asma merupakan penyakit kronis yang ditemukan pada semua kalangan. Prevalensi total asma di dunia diperkirakan 7,2% (6% pada dewasa dan 10% pada anak-anak). Penderita asma terus meningkat pada seluruh negara di dunia walaupun di Amerika dilaporkan tidak terjadi peningkatan penderita asma pada beberapa negara bagian. Terdapat banyak faktor yang mempengaruhi prevalensi

asma yaitu usia, jenis kelamin, ras, sosio-ekonomi, dan faktor lingkungan.

Prevalensi dari gejala asma juga sangat beragam.

Berikut adalah beberapa penelitian tentang prevalensi asma di Indonesia (IDAI, 2012).

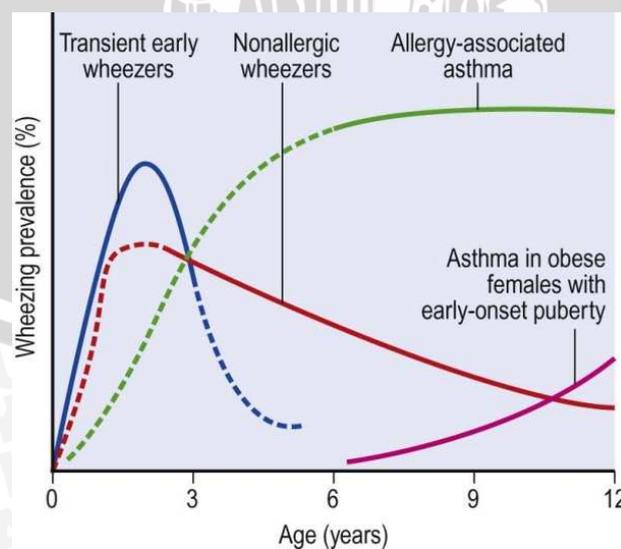
**Tabel 2.1. Prevalensi asma pada anak di berbagai kota di Indonesia**

Peneliti (kota)	Tahun	Jumlah Sampel	Umur (tahun)	Prevalensi (%)
Djajanto (Jakarta)	1991	1200	6-12	16,4
Rosmayudi O (Bandung)	1993	4865	6-12	6,6
Dahlan (Jakarta)	1996	-	6-12	17,4
Arifin (Palembang)	1996	1296	13-15	5,7
Rosalina I (Bandung)	1997	3118	13-15	2,6
Kartasasmita (Bandung)	2002	2678 2836	6-7 13-14	3,0 5,2

Asma merupakan sepuluh besar penyebab kesakitan dan kematian di Indonesia, hal ini tergambar dari data survei kesehatan rumah tangga (SKRT) di berbagai propinsi di Indonesia. Survei kesehatan rumah tangga (SKRT) 1986 menunjukkan asma menduduki urutan ke-5 dari 10 penyebab kesakitan (morbidity) ke-4 di Indonesia atau sebesar 5,6%. Tahun 1995, prevalensi asma di seluruh Indonesia sebesar 13/1000, dibandingkan bronkitis kronis 11/1000 dan obstruksi paru 2/1000 (PPDI, 2003).

Dilaporkan juga akhir-akhir ini terjadi peningkatan kematian akibat asma yang sebelumnya asma dianggap bukan penyakit yang menyebabkan kematian. Berdasarkan laporan dari NCHS tahun 2000, terdapat 4.487 kematian akibat asma atau 1,6 per 100.000 populasi. Prevalensi asma pada anak laki-laki sampai usia 10 tahun 1,5 sampai 2 kali lipat anak perempuan, tapi berubah menjadi

sama antara laki-laki dan perempuan pada usia 30 tahun. Dari Melbourne dilaporkan 25% anak dengan asma persisten mendapat serangan mengi pada usia <6 bulan dan 75% anak mendapat serangan mengi pertama sebelum usia 3 tahun. Anak dengan riwayat orang tua atopi juga didapatkan mempunyai prevalensi asma yang lebih tinggi dibandingkan dengan anak yang orang tuanya tidak memiliki riwayat atopi. Faktor lingkungan yang berupa alergen juga memicu tercetusnya penyakit asma. Menurut laporan di Amerika didapatkan serangan asma pada ras kulit hitam lebih tinggi daripada ras kulit putih begitu juga dengan kematian akibat asma pada ras kulit putih lebih tinggi. Prevalensi asma pada anak yang terpapar asap rokok lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak terpapar asap rokok. Infeksi RSV merupakan faktor resiko bermakna pada terjadinya mengi di usia 6 tahun. Asma juga menurunkan tingkat produktivitas seseorang. Pada anak yang bersekolah asma merupakan masalah tersendiri dalam masa pendidikan. Terdapat 3 tipe wheezing pada anak yaitu *transient early wheezing*, *wheezing of late onset*, dan *persisten wheezing*. Ketiganya sangat terikat erat manifestasinya dengan umur anak (IDAI, 2012).



Gambar 2.1 Fenotip *wheezing* pada anak (Leung DM,2010)

ISAAC melaporkan bahwa asma pada anak meningkat di banyak negara mulai 1993 sampai 2003. Meskipun demikian di negara yang prevalensinya paling tinggi terutama di negara yang memakai bahasa Inggris, prevalensi gejala asma berubah sedikit durasi waktu dan bahkan menurun. Hal yang berbeda, prevalensinya meningkat selama waktu tersebut, khususnya pada negara-negara dengan pendapatan menengah dan rendah dengan jumlah penduduk yang besar (Asher, 2013).

Prevalensi asma anak di daerah perkotaan biasanya lebih tinggi daripada di desa, terlebih pada golongan sosio-ekonomi rendah dibanding sosio-ekonomi tinggi. Pola hidup di kota besar, perkembangan industri yang pesat dan banyaknya jumlah kendaraan bermotor menyebabkan polusi udara. Keadaan ini meningkatkan hiperresponsif saluran napas, rinitis alergi dan atopi akibat zat polutan dan secara tidak langsung meningkatkan risiko terjadinya asma baik prevalensi, morbiditas (perawatan dan kunjungan ke instansi gawat darurat) maupun mortalitasnya. Lingkungan di dalam maupun di luar rumah dapat mendukung pencetus asma meskipun faktor genetik merupakan faktor penting penyebab asma (Rosamarlina dkk, 2010).

### **2.3. Imunoglobulin E**

IgE dapat dijumpai dalam serum dengan kadar rendah dan hanya merupakan 0,0004% saja dari kadar imunoglobulin total. Selain itu IgE dapat dijumpai dalam cairan sekresi. Salah satu sifat penting IgE adalah kemampuannya untuk melekat erat pada permukaan mastosit atau basofil melalui reseptor Fcε. IgE mempunyai sifat yang khas yang tidak dimiliki oleh jenis imunoglobulin yang lain yaitu sifatnya yang mempunyai afinitas yang sangat kuat terhadap sel mast. IgE mempunyai segmen Fcε yang akan berikatan dengan

segmen Fcε pada sel mast. Ikatan ini bisa sampai beberapa minggu. Bila sel yang dilapisi IgE ini terpapar pada alergen, sel tersebut akan melepaskan mediator reaksi hipersensitifitas yang sangat poten, sehingga menimbulkan gejala alergi. IgE dibentuk setempat oleh sel plasma dalam selaput lendir saluran napas dan saluran cerna (Kresno, 2010).

IgE diproduksi oleh sel plasma yang terletak pada lymph node dan daerah yang mengalami reaksi alergi, yaitu pada germinal senter pada jaringan yang mengalami inflamasi. Agar IgE dapat terbentuk memerlukan antigen serta rute presentasi tertentu. Th2 yang merupakan subset CD4 dapat membelokkan sintesis isotipe antibodi dari IgM ke IgE (Rifa'i, 2013).

Respon imun yang menyebabkan terbentuknya IgE disebabkan oleh dua signal utama. Pertama adalah signal yang memacu terjadinya diferensiasi sel T naive menjadi sel Th2. Kedua adalah signal yang datang dari Th2 baik berupa produksi sitokin maupun signal ko-stimulator yang menstimuli sel B membentuk antibodi IgE (Rifa'i, 2013).

Sel mast dan basofil yang teraktivasi akan mengekspresikan ligand CD40 dan mensekresi IL-4. Dalam hal ini, sel mast dan basofil mempunyai peranan mirip Th2 yaitu menstimulasi class switching terhadap sel B sehingga memproduksi IgE. Interaksi sel mast dan sel B dapat terjadi pada daerah yang mengalami alergi. Salah satu tujuan terapi pada alergi adalah menggeblok amplifikasi reaksi yang berkelanjutan antara sel mast maupun basofil dengan sel B (Rifa'i, 2013).

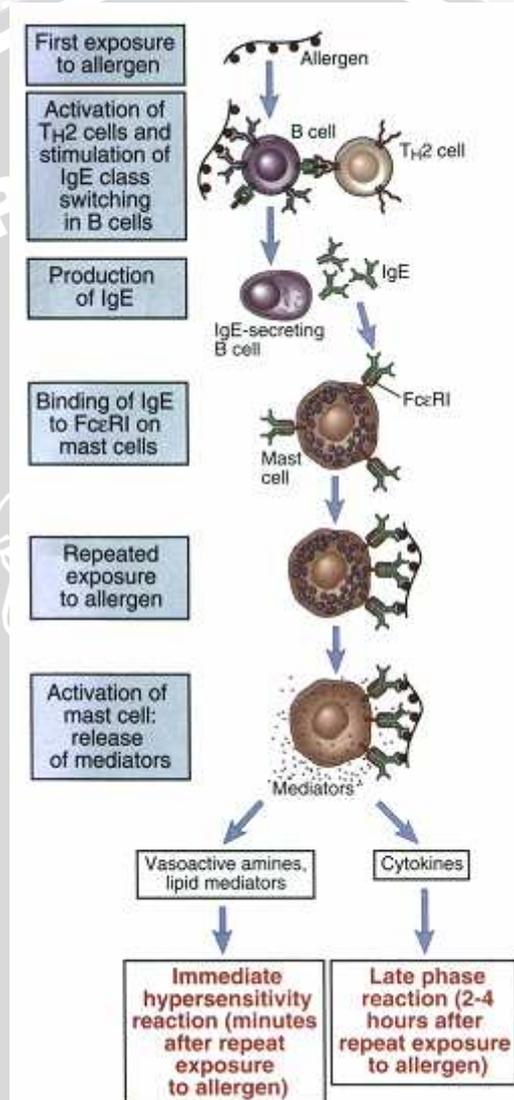
Respon imun yang menyebabkan terbentuknya IgE disebabkan oleh dua sinyal utama. Pertama adalah signal yang memacu terjadinya diferensiasi sel T naive menjadi sel Th2. Kedua adalah signal yang datang dari Th2 baik berupa

sitokin maupun signal kostimulator yang menstimuli sel B membentuk antibodi IgE. Sel T CD4 naive yang merespon peptida yang dipresentasikan oleh sel dendritik akan berdiferensiasi menjadi sel Th1 atau sel Th2 tergantung lingkungannya baik sebelum maupun selama terjadinya respon. Sifat antien, dosis antigen, dan tempat dimana terjadinya respon juga menentukan diferensiasi akhir dari sel T naive. Sel T CD4 naive yang terpapar IL4, IL5, IL9, dan IL13 akan cenderung berkembang menjadi sel Th2, sedangkan paparan terhadap IL2, IL23, IL27 dan IFN gama akan mengarahkan sel T CD4 naive berkembang menjadi Th1. Sel dendritik yang menangkap antigen akan bermigrasi menuju limph node dan akan mengarahkan sel T CD4 yang spesifik untuk berkembang menjadi sel efektor Th2. Th2 ini sendiri merupakan sel yang punya kemampuan mensekresi IL4, IL5, IL9, dan IL13, sehingga menjaga lingkungan untuk tetap memberi kondisi bagi eksistensi Th2 (Rifa'i, 2013).

Ige yang diproduksi sel plasma akan berikatan dengan reseptornya yang berada pada sel mast dan basofil. Ketika IgE yang ada pada permukaan sel mast mengadakan ikatan silang yang dihubungkan oleh antigen, sel mast teraktivasi dan mengekspresikan ligan CD40 dan mensekresi IL4. IL4 pada akhirnya berikatan dengan reseptornya di sel B yang teraktivasi. Ikatan IL4 dengan reseptornya di sel B menimbulkan class switching yang mengarah pada pembentukan antibodi IgE yang lebih banyak. Mekanisme ini terjadi in vivo pada daerah yang mengalami inflamasi akibat alergen (Rifa'i, 2013).

Jika IgE telah diproduksi, imunoglobulin tersebut akan mengadakan ikatan dengan sel mast maupun basofil. Ikatan tersebut pada akhirnya akan membantu produksi IgE. Sel-sel yang mengadakan ikatan dengan IgE mengekspresikan FcεRI. Sel mast dan basofil yang telah mengikat IgE akan teraktivasi

dengan adanya ikatan terhadap antigen pada IgE. Sel mast dan basofil yang teraktivasi akan mengekspresikan ligand CD40 dan mensekresi IL4. Dalam hal ini, sel mast dan basofil mempunyai peranan yang mirip Th2 yaitu menstimulasi class switching terhadap sel B sehingga memproduksi IgE (Rifa'i, 2013).



**Gambar 2.2 Pembentukan IgE (Abbas, 2007)**

Kadar igE pada individu atopi lebih tinggi dibandingkan dengan individu normal dan kadar igE spesifik terhadap antigen tertentu juga meningkat sesuai dengan kepekaan orang bersangkutan terhadap alergen yang relevan. Kadar IgE

tinggi ditemukan pada infeksi cacing, skistosomiasis, penyakit hidatid, trikinosis, dan diduga mempunyai peran terhadap imunitas terhadap parasit. (Kresno, 2010). Terdapat gen yang berhubungan dengan asma, kromosom 5q yang merupakan gen yang mengatur perkembangan kearah sel Th2. Sel Th2 inilah yang menginduksi sel B untuk menghasilkan imunoglobulin terutama IgE. Selain itu ada kromosom 11p yang menyandi rantai beta reseptor IgE afinitas tinggi.

Produksi IgE sangat dipengaruhi oleh IL-4 dan IFN gama. IL-4 dapat menginduksi terbentuknya IgE tapi sebaliknya IFN gama menghambat pembentukan IgE (Subowo, 2013).

Terdapat 2 reseptor IgE yaitu low-afinity receptor (FcεRII;CD23) yang diekspresikan oleh permukaan sel B sebagaimana sel-sel hematopoietik yang lain, dan high afinity IgE receptor (FcεRI) yang diekspresikan oleh sel mast dan basofil. Pembentukan IgE terjadi melalui 2 signal yaitu yang pertama IL4 dan IL13 dan yang kedua adalah CD40L pada sel T yang bekerja pada CD40 pada sel B (Stone *et al*, 2009).

#### **2.4. Reaksi Hipersensitivitas Tipe 1**

Reaksi hipersensitifitas tipe 1 disebut juga reaksi hipersensitifitas tipe cepat dimana alergen yang masuk akan menimbulkan reaksi imun yang akan memproduksi IgE. Terdapat 3 fase pada Reaksi hipersensitivitas tipe 1 (Baratawijaya, 2014), yaitu:

1. Fase sensitisasi, merupakan waktu yang dibutuhkan untuk pembentukan IgE sampai diikat silang oleh reseptor spesifik pada permukaan sel mast atau basofil (Baratawijaya, 2014). Saat antigen pertama kali masuk maka sel T helper akan menstimulasi sel B untuk

menghasilkan IgE. IgE yang dihasilkan tersebut mempunyai spesifitas terhadap antigen yang masuk tersebut dan IgE akan berikatan dengan sel mast yang mempunyai afinitas tinggi terhadap IgE dan saat itulah terjadi sensitisasi terhadap antigen spesifik. Saat sensitisasi tidak terjadi reaksi, baru setelah pajanan selanjutnya terjadi reaksi karena IgEnya sudah spesifik terhadap antigen tertentu. Sensitisasi sel mast bisa juga didapatkan dengan transfer pasif serum yang berisi IgE spesifik terhadap antigen tertentu (Subowo, 2013).

2. Fase aktivasi, merupakan waktu yang diperlukan antara pajanan ulang dengan antigen spesifik dan sel mast atau basofil melepaskan isinya yang berisikan granul yang menimbulkan reaksi. Hal ini terjadi oleh ikatan silang antara antigen dan IgE (Baratawijaya, 2014).
3. Fase efektor, waktu terjadi respon yang kompleks (anafilaksis) sebagai efek mediator-mediator yang dilepas sel mast atau basofil dengan aktivitas farmakologik (Baratawijaya, 2014).

IgE dan sel mast mengekspresikan Fc yang akan saling berikatan. Bila antigen masuk maka antigen ini akan berikatan dengan IgE yang mana terjadi *crosslinking*, antigen membentuk jembatan antara dua molekul IgE. *Crosslinking* ini hanya terjadi pada antigen bivalen dan multivalen. Selain ikatan antigen dan IgE yang bisa mengaktifkan sel mast, IgE juga bisa berikatan dengan anti IgE yang juga bisa mengaktifkan sel mast yang akan mengeluarkan mediator. Sel Th2 dapat menghasilkan IL-4 yang mempunyai sifat autokrin pada sel mast dan IL-4 bersama substansi lain dapat menstimulasi sel B untuk menghasilkan IgE.

Produksi IL-5, IL-8 dan IL-9 berperan dalam kemotaksis sehingga mengaktivasi sel-sel inflamasi di daerah alergi (Kresno, 2010).

Salah satu mekanisme efektor sistem imun yang paling kuat pada Reaksi hipersensitivitas tipe 1 adalah aktivasi sel Th2. Hal tersebut akan menyebabkan sel B akan berkembang menjadi sel plasma yang pada akhirnya akan menghasilkan IgE yang akan berikatan dengan sel mast. Pelepasan mediator-mediator akan meningkatkan permeabilitas kapiler, vasodilatasi, kontraksi otot polos bronkus dan saluran cerna serta inflamasi lokal. (Kresno, 2010). Berikut adalah mediator-mediator yang dilepaskan sel mast (Abbas, 2007):

**Tabel 2.2. Mediator-mediator yang dilepaskan pada alergi (Abbas, 2007)**

Cell type	Mediator category	Mediator	Function/pathologic effects
<b>Mast cells and basophils</b>			
	Stored preformed in cytoplasmic granules	Histamine	Increases vascular permeability; stimulates smooth muscle cell contraction
		Enzymes: neutral proteases (tryptase and/or chymase), acid hydrolases, cathepsin G, carboxypeptidase	Degrade microbial structures; tissue damage/remodeling
	Major lipid mediators produced on activation	Prostaglandin D <sub>2</sub>	Vasodilation, bronchoconstriction, neutrophil chemotaxis
		Leukotrienes C <sub>4</sub> , D <sub>4</sub> , E <sub>4</sub>	Prolonged bronchoconstriction, mucus secretion, increased vascular permeability
		Platelet-activating factor	Chemotaxis and activation of leukocytes, bronchoconstriction, increased vascular permeability
	Cytokines produced on activation	IL-3	Mast cell proliferation
		TNF, MIP-1 $\alpha$	Inflammation/late phase reaction
		IL-4, IL-13	IgE production, mucus secretion
		IL-5	Eosinophil production and activation
<b>Eosinophils</b>			
	Stored performed in cytoplasmic granules	Major basic protein, eosinophil cationic protein	Toxic to helminths, bacteria, host cells
		Eosinophil peroxidase, lysosomal hydrolases, lysophospholipase	Degrades helminthic and protozoan cell walls; tissue damage/remodeling
	Major lipid mediators produced on activation	Leukotrienes C <sub>4</sub> , D <sub>4</sub> , E <sub>4</sub>	Prolonged bronchoconstriction; mucus secretion, increased vascular permeability
	Cytokines produced on activation	IL-3, IL-5, GM-CSF IL-8, IL-10, RANTES, MIP-1 $\alpha$ , eotaxin	Eosinophil production and activation Chemotaxis of leukocytes

*Abbreviations:* GM-CSF, granulocyte-monocyte colony-stimulating factor; IL-3, interleukin-3, MIP-1 $\alpha$ , monocyte inflammatory protein-1 $\alpha$ ; RANTES, regulated by activation, normal T cell expressed and secreted; TNF, tumor necrosis factor.

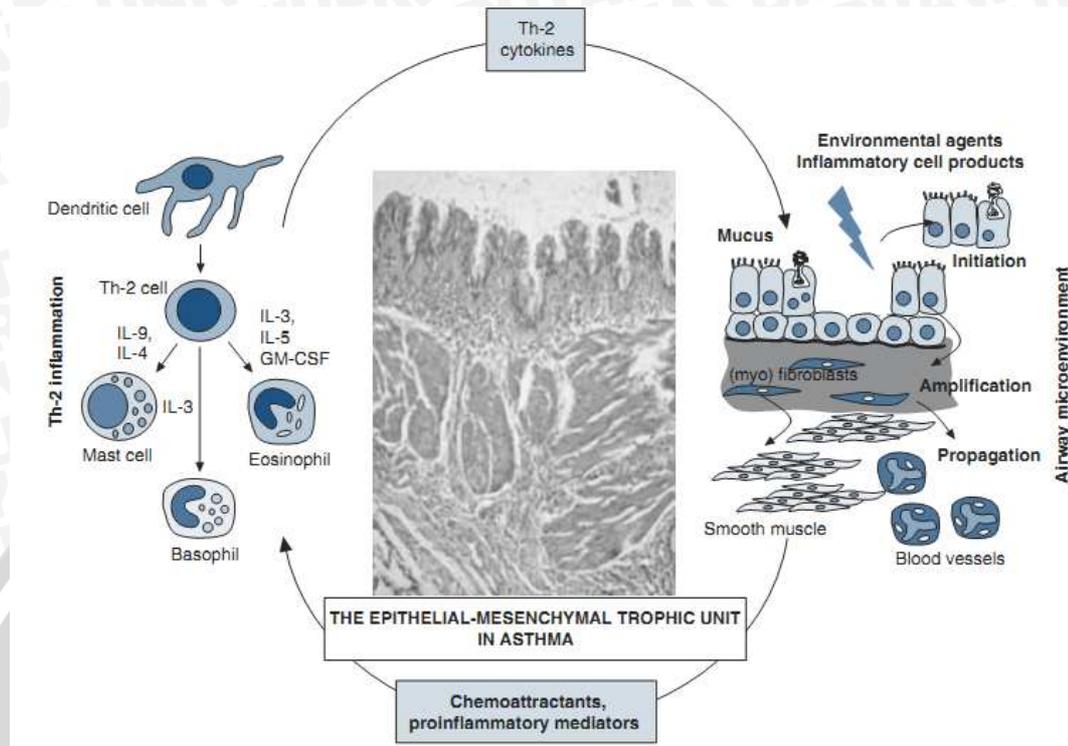
Granula sel mast mengandung beberapa protease, dua diantaranya adalah tryptase dan chymase. Tryptase menyebabkan respon berlebihan pada bronkus dan chymase dapat merangsang sekresi mukus oleh bronkus, keduanya adalah ciri asma (Kresno, 2010).

Mediator yang paling banyak dilepaskan adalah histamin yang akan menimbulkan manifestasi klinis pada organ yang bervariasi. Pada hidung timbul rasa gatal, hipersekresi, dan hidung tersumbat. Histamin yang diberikan secara inhalasi dapat menimbulkan kontraksi otot polos bronkus yang akan menyebabkan bronkokonstriksi. Gejala kulit adalah reaksi gatal berupa wheal dan flare, dan pada saluran cerna adalah hipersekresi asam lambung, kejang usus, dan diare. Histamin mempunyai peran yang kecil pada asma, karena itu antihistamin hanya dapat mencegah sebagian gejala alergi pada mata, hidung, dan kulit, tetapi tidak pada bronkus.

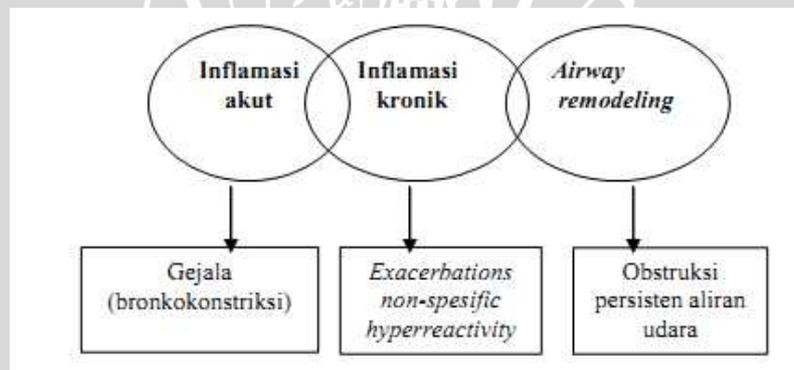
## **2.5. Patogenesis Asma**

Asma merupakan penyakit yang didasarkan oleh proses inflamasi dan adanya faktor pencetus terjadinya asma. Banyak sel yang terlibat dalam proses inflamasi tersebut, diantaranya adalah makrofag, eosinofil, limfosit T, sel mast, sel epitel, mediator, dan banyak lainnya. Faktor genetik juga sangat menentukan. Terdapat 4 jenis sel T, yaitu Th1, Th2, T supresor, dan Th17. Th1 terutama menghasilkan IL-2, IFN gama, dan TNF beta. Sedangkan Th2 menghasilkan IL-4, IL-5, IL-9, IL13, dan IL-16. Pada asma terjadi ketidakseimbangan antara Th1 dan Th2 dimana Th2 lebih tinggi dari Th1 padahal Th2 tersebut menghasilkan sitokin proinflamasi yang menyebabkan terjadinya hipereaktifitas, inflamasi, dan obstruksi bronkus. Dimulai dari antigen yang masuk kemudian ditangkap oleh sel dendritik di kulit lalu sel dendritik tersebut akan berjalan menuju ke tempat yang

banyak terdapat limfosit. Di tempat tersebut dengan pengaruh sitokin sel dendritik berubah menjadi sel APC yang merupakan sel yang kompeten mempresentasikan antigen ke sel Th2 melalui ikatan MHC kelas II. Sel Th2 akan menghasilkan sitokin-sitokin diantaranya IL-4, IL-5, dan IL-6 yang akan menstimuli sel B untuk menghasilkan antibodi terutama IgE. IL-5 juga berperan dalam regulasi eosinofil dalam menginduksi pematangan eosinofil. Pada asma terjadi 2 jenis inflamasi yaitu inflamasi akut dan inflamasi kronis. Pada inflamasi akut terjadi reaksi fase cepat dan reaksi fase lambat. Reaksi fase cepat dihasilkan oleh antigen yang terikat pada IgE spesifik pada sel mast sehingga terjadi aktivasi sel mast sehingga terjadi degranulasi sel mast yang mana akan melepaskan mediator-mediator seperti histamin, proteolitik, enzim glikolisis, heparin serta mediator *newly generator* seperti prostaglandin, leukotrien, adenosin, dan oksigen reaktif. Akibat dari hal tersebut adalah kontraksi otot polos bronkus, hipersekresi mukus, vasodilatasi, kebocoran mikrovaskular serta akan menstimulasi saraf aferen. Reaksi fase lambat terjadi 6-9 jam setelah provokasi alergen dan akan melibatkan sel eosinofil, sel T CD4+, neutrofil, dan makrofag. Pada inflamasi kronis sel yang terlibat adalah limfosit T, eosinofil, sel mast, makrofag, sel epitel fibroblast, dan otot polos bronkus. Sel Th2 mengeluarkan sitokin IL-3, IL-4, IL5, IL-13 dan GM-CSF. IL-4 berperan menginduksi Th0 ke arah Th2 dan bersama-sama IL-13 menginduksi sel B untuk mensekresi IgE. IL-3, IL-5 serta GM-CSF berperan pada maturasi, aktivasi serta memperpanjang ketahanan hidup eosinofil (PDPI, 2003). Sel epitel akan mengekspresikan molekul adhesi, endotelin, NOS, sitokin, atau kemokin. Makrofag menghasilkan leukotrien, PAF, serta sejumlah leukotrien dan berperan dalam prose remodeling saluran napas.



Gambar 2.3 Inflamasi dan remodeling pada asma (Holgate, 2008)

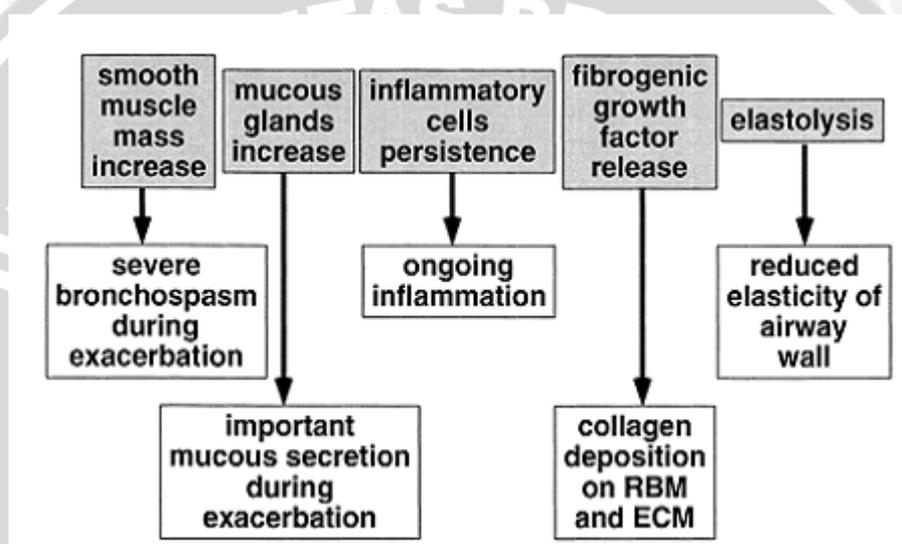


Gambar 2.4 Hubungan inflamasi akut, inflamasi kronis, dan remodeling saluran napas (PDPI, 2003)

Inflamasi kronis akan merangsang tubuh untuk melakukan remodeling sebagai bentuk perbaikan jaringan yang rusak. Perubahan struktur yang terjadi adalah:

- Hipertrofi dan hiperplasia otot polos jalan napas

- Hipertrofi dan hiperplasia kelenjar mukus
- Penebalan membran retikular basal
- Pembuluh darah meningkat
- Matriks ekstraselular fungsinya meningkat
- Perubahan struktur parenkim
- Peningkatan fibrogenic growth factor menjadi fibrosis



**Gambar 2.5 Perubahan struktur pada remodeling saluran napas serta konsekuensi klinisnya (PDPI, 2003)**

Perubahan struktur pada remodeling saluran napas serta konsekuensinya adalah sebagai berikut:

1. Efek terhadap inflamasi saluran respiratori

Remodelling saluran respiratori dianggap sebagai proses tersendiri yang terpisah dari proses inflamasi. Proses tersebut juga dapat berperan dalam perkembangan dan persistensi inflamasi saluran respiratori. Komponen ECM seperti fibronektin dapat berinteraksi dengan sel inflamasi, mempengaruhi aktivitas sel, pelepasan mediator dan kemokin. Pergerakan (trafficking) sel dendritik, yang merupakan

APC utama saluran respiratori dapat terganggu oleh perubahan dalam ECM sehingga respon imun bertambah.

2. Efek terhadap obstruksi saluran napas

Obstruksi saluran napas dulu dianggap bersifat reversibel. Tapi penelitian membuktikan bahwa banyak pasien asma yang simtomatik maupun asimtomatik memiliki obstruksi saluran respiratori yang ireversibel. Suatu penelitian epidemiologi selama 15 tahun menemukan bahwa nilai FEV1 pada pasien asma menurun 50 ml/tahun. Ireversibilitas dan penurunan fungsi paru tersebut diduga disebabkan perubahan struktural saluran respiratori akibat remodelling

3. Efek terhadap hiperreaktivitas bronkus

Hipereaktivitas bronkus merupakan abnormalitas fungsional utama pada asma. Penebalan dinding saluran respiratori, otot polos, dan ECM telah dibuktikan berkaitan dengan BHR. Deposisi kolagen subepitel akan meningkatkan kekakuan lapisan dalam dinding saluran respiratori, sehingga mengakibatkan jumlah lipatan mukosa berkurang saat ASM berkontraksi. Hal ini menyebabkan penyempitan lumen menjadi lebih nyata (IDAI, 2012).

Berikut mediator yang berperan dalam patogenesis asma (Murphy *et al*, 2010)

**Tabel 2.3 Mediator yang berperan pada asma (Murphy *et al*, 2010)**

Mediator	Potential Sources	Potential Key Actions
IL-4	Mast cells, basophils	Immunoglobulin class switching of B cells from IgG to IgE; differentiation of Th2 cells; maturation of dendritic cells
IL-5	Mast cells	Differentiation and enhanced survival of eosinophils
IL-13	Mast cells, basophils	Immunoglobulin class switching of B cells from IgG to IgE; induction of inflammatory cytokine release from epithelial and other structural cells
TNF- $\alpha$	Mast cells, alveolar macrophages, T cells, epithelial cells, airway smooth muscle	Induction of proinflammatory cytokine release from structural cells; promotion of Th17-induced neutrophilia; enhancement of dendritic cell migration; induction of CD4 T-cell migration; antigen presentation; modulation of Treg cells
IL-6	“Structural” cells, dendritic cells, basophils	Aids Th17 expansion and development
IL-17A	Th17 cells	Promote neutrophilia via induction of proinflammatory cytokine and chemokine release from structural cells
IL-33	Structural cells such as epithelial cells	Promote differentiation to Th2 cells; chemoattractant for Th2 cells; enhance survival of, and cytokine production by, mast cells
SCF	Structural cells, mast cells, and eosinophils	Growth factor and chemoattractant for mast cells
TGF- $\beta$	Eosinophils, mast cells, and macrophages	Proliferation of fibroblasts; possibly induction of EMT; development of immune tolerance via promotion of a Treg response; in combination with IL-6, may promote a Th17 response
VEGF	Structural cells, eosinophils	Angiogenic promotion of vascular remodeling
TSLP	Epithelial cells	Promotion of a Th2 response; activation of dendritic cells and mast cells
Neurotrophin (NGF and BDNF)	Epithelial cells, fibroblasts, airway smooth muscle cells, macrophages, mast cells, eosinophils, and lymphocytes	Enhanced airway eosinophilia; mast cell recruitment and activation; increased airway hyperresponsiveness; promotion of airway inflammatory response
Lipoxins	Derived at mucosal surface from interaction between neutrophils and primarily epithelial cells, but also platelets, endothelial cells, leukocytes, and fibroblasts	Attenuate bronchial hyperresponsiveness and promote resolution of inflammation
Resolvins	Interaction between neutrophils and structural cells	Enhance resolution of airway inflammation and attenuate bronchial hyperresponsiveness
Protectins	Interaction between neutrophils and structural cells	Decrease allergic airway inflammation and airway hyperresponsiveness

BDNF = brain derived neurotrophic factor; EMT = epithelial mesenchymal transition; IL = interleukin; NGF = nerve growth factor; SCF = stem cell factor; TGF = transforming growth factor; Th = T-helper; TNF = tumor necrosis factor; Treg = T-regulatory; TSLP = thymic stromal lymphopoietin; VEGF = vascular endothelial growth factor.

## 2.6. Patofisiologi Asma

### 1. Obstruksi saluran respiratori

Inflamasi saluran napas merupakan hal yang mendasari obstruksi saluran napas yang mengakibatkan keterbatasan aliran udara yang bersifat reversibel. Inilah yang mendasari gejala khas asma yaitu mengi, batuk, dan sesak dan respon saluran napas yang berlebihan terhadap rangsangan bronkokonstriksi. resistensi saluran napas

mengalami peningkatan dan laju ekspirasi maksimal mengalami penurunan yang mempengaruhi volume paru keseluruhan.

#### 2. Hiperreaktivitas saluran respiratori

Hiperreaktivitas saluran napas berhubungan dengan mudahnya saluran napas mengalami penyempitan dan atau respon berlebihan terhadap provokasi stimulus. Mekanisme hiperreaktivitas saluran napas belum jelas namun dapat berhubungan dengan perubahan otot polos saluran napas yang terjadi sekunder serta berpengaruh terhadap kontraktilitas ataupun fenotipnya.

#### 3. Otot polos saluran respiratori

Pengkukuran terhadap kontraksi isotonik otot polos saluran napas pasien asma menunjukkan adanya pemendekan dari panjang otot. Kelainan fungsi kontraksi ini diakibatkan oleh perubahan pada aparatus kontraktil pada bagian elastisitas jaringan otot polos atau pada matriks ekstraselularnya. Peningkatan kontraktilitas otot pada pasien asma berhubungan dengan peningkatan kecepatan pemendekan otot. Terdapat bukti bahwa perubahan pada struktur filamen kontraktilitas atau plastisitas dari otot polos dapat menjadi etiologi hiperreaktivitas saluran napas yang terjadi secara kronik.

#### 4. Hipersekresi mukus

Hiperplasia kelenjar submukosa dan sel goblet sering kali ditemukan pada saluran napas pasien asma dan penampakan remodeling saluran napas merupakan karakteristik asma kronis. Obstruksi yang luas akibat penumpukan mukus saluran napas hampir selalu ditemukan pada asma yang fatal dan menjadi penyebab obstruksi

saluran napas yang persisten pada serangan asma berat yang tidak mengalami perbaikan dengan pemberian bronkodilator. Sekresi mukus pada saluran napas pasien tidak hanya berupa peningkatan volume saja tapi juga perbedaan pada viskoelastisitas. Perbedaan kualitas dan kuantitas dapat timbul baik akibat infiltrasi sel inflamasi maupun perubahan patologis sel sekretori, pembuluh darah epitel saluran napas dan lapisan submukosa. Penebalan dan perlengketan dari sekret tidak hanya sekedar penambahan produksi musin saja tapi juga terdapatnya penumpukan sel epitel, pengendapan albumin yang berasal dari mikrosirkulasi bronkial, eosinofil, dan DNA yang berasal dari sel inflamasi yang mengalami lisis. Hipersekresi mukus merefleksikan dua mekanisme patofisiologi yaitu mekanisme yang bertanggungjawab terhadap sekresi sel yang mengalami metaplasia dan hiperplasia dan mekanisme patofisiologi yang bertanggungjawab hingga terjadi sekresi sel granulasi. Mediator penting yang dikeluarkan sel Goblet, yang mengalami metaplasia dan hiperplasia, merupakan bagian dari rantai inflamasi. Degranulasi sel Goblet dipengaruhi oleh faktor lingkungan.

#### 5. Keterbatasan aliran udara irreversibel

Penebalan saluran napas terjadi pada bagian kartilago dan membranosa saluran napas. Bersamaan dengan perubahan pada bagian elastik dan hilangnya hubungan antara saluran napas dengan parenkim disekitarnya, penebalan dinding saluran napas dapat menjelaskan mekanisme timbulnya penyempitan saluran napas yang gagal untuk kembali normal dan terus-menerus pada subgroup

pasien asma. Kekakuan otot polos menyebabkan aliran udara pernapasan terhambat hingga menjadi irreversibel.

#### 6. Eksaserbasi

Terdapat banyak faktor yang mencetuskan sehingga terjadi eksaserbasi, termasuk stimulus yang menyebabkan bronkokonstriksi (seperti udara dingin, kabut, olah raga) dan stimulus yang menyebabkan inflamasi saluran napas (seperti paparan alergen, pencetus okupasi, ozon atau virus saluran napas). Olah raga dan hiperventilasi pernapasan dengan keadaan udara dingin dan kering menyebabkan bronkokonstriksi dan pelepasan sel lokal dan mediator inflamasi yang dapat menstimuli kontraksi otot polos. Stimulus yang hanay menyebabkan bronkokonstriksi tidak akan memperburuk respon bronkial yang diakibatkan oleh stimulus yang lain, sehingga hanya bersifat sementara saja. Eksaserbasi asma dapat timbul selama beberapa hari (IDAI, 2012).

### 2.7. **Diagnosis dan Derajat Asma pada Anak**

Asma pada anak merupakan salah satu penyakit yang sulit didiagnosis karena manifestasi klinisnya banyak mirip dengan penyakit lainnya. Mengi, batuk, dan adanya faktor pencetus merupakan manifestasi terpenting dari asma. Perjalanan penyakit asma dapat menunjukkan berbagai macam manifestasi klinis yang tidak spesifik dan heterogen baik diantara beberapa individu maupun pada individu yang sama. Hal tersebut seringkali dalam diagnosis asma terjadi kesalahan yang bisa overdiagnosis maupun underdiagnosis. Dalam Penegakan diagnosis asma harus disingkirkan terlebih dahulu penyakit yang lain. Dokter juga harus mengidentifikasi faktor risiko yang dimiliki anak untuk menjadi asma.

(IDAI, 2012). Terdapat kriteria klinis yang dapat mengidentifikasi faktor risiko asma pada anak yaitu *loose index*. *Loose index* adalah jika seorang anak merupakan early wheezer pada 3 tahun pertama kehidupan dan memenuhi paling sedikit 2 kriteria mayor atau 1 kriteria mayor dan 2 kriteria minor (IDAI 2013).

**Tabel 2.4 Indeks klinis untuk mengetahui risiko asma**

Kriteria Mayor	Kriteria Minor
1. Asma pada orangtua (didiagnosis oleh dokter)	1. Rinitis alergi yang didiagnosis oleh dokter
2. Eksema pada anak (didiagnosis oleh dokter)	2. Mengi di luar selesma (common cold)
	3. Eosinofilia ( $\geq 4\%$ dari jumlah leukosit)

Asma tidak memiliki gold standart untuk diagnosis nya. Diagnosis didasarkan pada pemeriksaan klinis. (Buku Ajar Ilmu Penyakit Paru, 2010).

Berikut adalah hal yang dapat ditemukan dalam diagnosis asma. (PDPI, 2003):

1. Riwayat penyakit/gejala:
  - Bersifat episodik, seringkali reversibel dengan atau tanpa pengobatan.
  - Gejala berupa batuk, sesak napas, rasa berat di dada dan dahak.
  - Gejala timbul atau memburuk terutama malam atau dini hari.
  - Diawali oleh faktor pencetus yang bersifat individu.
  - Respon terhadap pemberian bronkodilator.
2. Hal lain yang perlu dipertimbangkan dalam riwayat penyakit:

- Riwayat keluarga (atopi).
- Riwayat alergi/atopi
- Penyakit lain yang memberatkan
- Perkembangan penyakit dan pengobatan

Pada pemeriksaan jasmani ditemukan mengi pada auskultasi. Pemeriksaan faal paru dapat menilai obstruksi jalan napas, reversibilitas kelainan faal paru, dan variabilitas faal paru sebagai penilaian tak langsung dari tingkat hiperesponsifitas jalan napas. Pemeriksaan spirometri dapat menilai derajat asma. Pembagian derajat penyakit asma menurut GINA 2006 sebagai berikut:

1. Intermiten

Gejala kurang dari 1 kali/minggu  
serangan singkat

Gejala nokturnal tidak lebih dari 2 kali/bulan ( $\leq 2$  kali)

-FEV<sub>1</sub>  $\geq 80\%$  *predicted* atau PEF  $\geq 80\%$  nilai terbaik individu

-Variabilitas PEF atau FEV<sub>1</sub>  $< 20\%$

2. Persisten ringan

Gejala lebih dari 1 kali/minggu tapi kurang dari 1 kali/hari

Serangan dapat mengganggu aktivitas dan tidur

gejala nokturnal  $>2$  kali/bulan

-FEV<sub>1</sub>  $\geq 80\%$  *predicted* atau PEF  $\geq 80\%$  nilai terbaik individu

-Variabilitas PEF atau FEV<sub>1</sub>  $< 20-30\%$

3. Persisten sedang

Gejala terjadi setiap hari

Serangan dapat mengganggu aktivitas dan tidur

gejala nokturnal  $>1$  kali dalam seminggu

Menggunakan agonis- $\beta_2$  kerja pendek setiap hari

-FEV 1 60- 80% *predicted* atau PEF 60-80% nilai terbaik individu

-Variabilitas PEF atau FEV 1 >30%

4. Persisten berat

Gejala terjadi setiap hari

serangan sering terjadi

Gejala asma nokturnal yang sering terjadi

-FEV 1  $\leq$  60% *predicted* atau PEF  $\leq$  60% nilai terbaik individu

-Variabilitas PEF atau FEV 1 >30%

GINA terbaru membagi derajat asma berdasarkan keterkontrolannya.

Terdapat tiga derajat keterkontrolan asma berdasarkan kriteria GINA 2012

1. Asma terkontrol

Gejala sehari-hari tidak ada (2 kali atau < 2 kali perminggu)

Keterbatasan aktivitas tidak ada

Gejala malam hari tidak ada

Obat pengendali tidak perlu (2 kali atau < 2 kali perminggu)

Fungsi paru (PEF atau FEV1) normal

2. Asma terkontrol sebagian

Gejala sehari-hari > 2 kali perminggu

Keterbatasan aktivitas ada

Gejala malam hari ada

Obat pengendali tidak perlu > 2 kali perminggu

Fungsi paru (PEF atau FEV1) < 80%

3. Asma tidak terkontrol

Tiga atau lebih poin-poin dari asma terkontrol sebagian

Pedoman Nasional asma anak Indonesia membagi asma menjadi 3 derajat penyakit.

**Tabel 2.5 Derajat asma menurut kriteria PNA**

Parameter klinis, kebutuhan obat, dan faal paru	Asma episodik jarang (asma ringan)	Asma episodik sering (asma sedang)	Asma persisten (asma berat)
Frekuensi serangan	< 1x/ bulan	>1x/ bulan	Sering
Lama serangan	< 1 minggu	≥ 1 minggu	Hampir sepanjang tahun, tidak ada remisi
Di antara serangan	Tanpa gejala	Sering ada gejala	Gejala siang dan malam
Tidur dan aktivitas	Tidak terganggu	Sering terganggu	Sangat terganggu
Pemeriksaan fisik di luar serangan	Normal (tidak ada kelainan)	Mungkin terganggu (ada kelainan)	Tidak pernah normal
Obat pengendali (anti inflamasi)	Tidak perlu	Nonsteroid/ steroid hirupan dosis rendah	Steroid hirupan/ oral
Uji faal paru (di luar serangan)*	PEF/FEV <sub>1</sub> >80%	PEF/ FEV <sub>1</sub> 60-80%	PEF/FEV <sub>1</sub> < 60%, variabilitas 20-30%
Variabilitas faal paru (bila ada serangan)*	Variabilitas >15%	Variabilitas >30%	Variabilitas >50%

Eksaserbasi (serangan) asma adalah episode perburukan gejala-gejala asma secara progresif. Gejala yang dimaksud adalah sesak napas, batuk, mengi, dada rasa tertekan, atau berbagai kombinasi gejala tersebut. Pada umumnya, eksaserbasi disertai distress pernapasan. Serangan asma ditandai oleh penurunan PEF atau FEV. Pengukuran ini merupakan indikator yang lebih dapat dipercaya daripada penilaian berdasarkan gejala. Sebaliknya, derajat lebih senditif untuk menunjukkan awal terjadinya eksaserbasi karena memberatnya gejala biasanya mendahului perburukan PEF. Derajat serangan asma bervariasi mulai dari yang ringan sampai yang mngancam jiwa, perburukan dapat terjadi dalam beberapa menit, jam, atau hari. Serangan akut biasanya timbul akibat

pajanan terhadap factor pencetus (paling sering infeksi virus atau alergen atau kombinasi keduanya), sedangkan serangan berupa perburukan yang bertahap mencerminkan kegagalan pengelolaan jangka panjang penyakit. Penilaian derajat serangan asma dapat dilihat pada table dibawah ini.

**Tabel 2.6 Derajat serangan asma menurut GINA 2012**

Parameter klinis, fungsi paru, laboratorium	Ringan	Sedang	Berat	Ancaman henti napas
Sesak (breathless)	Berjalan Bayi: menangis keras	Berbicara Bayi: tangis pendek kesulitan menyusu/makan	Istirahat Bayi: tidak mau makan/minum	
Bicara	Bisa berbaring kalimat	Lebih suka duduk	Duduk bertopang lengan Kata-kata	
Kesadaran	Mungkin iritable	Biasanya iritable	Biasanya irritable	Kebingungan
Respiratory rate	Meningkat	Meningkat	Sering >30/menit	
	Napap normal pada anak			
	Umur <2 bulan	Normal napas <60/menit		
	2-12 bulan	<50/menit		
	1-5 tahun	<40/menit		
	6-8 tahun	<30/menit		
Penggunaan otot bantu respiratorik	Biasanya tidak	Biasanya ya	Ya	Gerakan paradox torakoabdominal
Mengi	Sedang, sering hanya akhir ekspirasi	Bersuara	Biasanya bersuara	Tidak ada mengi
Frekuensi nadi	normal	Takikardi	Takikardi	Bradikardi
	Batas normal nadi pada anak			
	Infant	2-12 bulan	<160/menit	
	Preschool	1-2 tahun	<120/menit	
	Usia sekolah	2-8 tahun	<110/menit	
Pulsus paradoksus (pemeriksaannya)	Tidak ada < 10 mmHg	Ada 10-25 mmHg	Ada >25 mmHg (dewasa)	Tidak ada Tanda kelelahan otot napas

tidak praktis)			20-40 mmHg (anak)
PEF setelah initial bronchodilator % predicted atau % personal best	> 80 %	60-80 %	< 60 % predicted atau personal best
SaO <sub>2</sub> %	> 95 %	91-95 %	≤ 90%
PaO <sub>2</sub>	Normal (biasanya tidak perlu diperiksa)	> 60 mmHg	< 60 mmHg
PaCO <sub>2</sub>	< 45 mmHg	< 45 mmHg	> 45 mmHg

## 2.8. Pemeriksaan Kadar IgE Spesifik

Ada beberapa pemeriksaan yang dapat digunakan untuk memeriksa kadar IgE spesifik diantaranya adalah RAST (*Radio Allergosorbent Test*), ELISA, dan RAST enzim.

### 1. RAST

RAST merupakan cara *radioimmunoassay* yang khusus digunakan untuk menemukan antibodi spesifik IgE. Dalam teknik ini antigen mula-mula diikat benda padat dari selulosa. IgE yang diikat kemudian dapat ditemukan dengan anti-IgE yang bertanda radioaktif. (Karnen, 2010) Alergen yang diperlukan dilekatkan pada diskret kertas yang direaksikan dengan IgE spesifik terhadap alergen tersebut pada serum contoh. Setelah dicuci untuk membuang IgE nonspesifik, ditambahkan antibodi terhadap IgE manusia yang dilabel dengan zat radioaktif hingga terbentuk kompleks alergen-IgE spesifik anti-IgE radioaktif. Radioaktivitas kompleks ini dapat diukur dengan penghitungan sinar gamma. Banyaknya radioaktivitas menunjukkan banyaknya IgE spesifik yang ada pada serum contoh. Hasil penghitungan dibandingkan dengan serum baku dan dibuat

klasifikasi. Biasanya klasifikasi dibagi menjadi 6 kelas yaitu antara 0 sampai 5. Kelas 0 menunjukkan negatif sedangkan 5 menunjukkan sangat positif atau sangat tinggi (IDAI, 2010).

## 2. ELISA

Elisa digunakan untuk menemukan antibodi. Dalam hal ini antigen mula-mula diikat benda padat kemudian ditambah antibodi yang akan dicari. Setelah itu ditambah lagi antigen yang bertanda enzim, seperti peroksidase dan fosfatase. Akhirnya ditambah substrat kromogenik yang bila bereaksi dengan enzim dapat menimbulkan perubahan warna. Perubahan warna yang terjadi sesuai dengan jumlah enzim yang diikat dan sesuai pula dengan kadar antibodi yang dicari. Dibandingkan dengan *radioimmunoassay*, pada uji elisa digunakan reagen yang lebih stabil, tetapi kurang sensitif (Baratawijaya, 2014). Pemeriksaan ini bertujuan untuk menguji antigen dengan antibodi yang telah dikenal yang dilabel dengan enzim (Ab-E) atau sebaliknya, yaitu menguji antibodi dengan yang telah dikenal. Kompleks antigen-antibodi yang terbentuk dipisahkan dari antigen dan antibodi yang bebas, kemudian diinkubasi dengan substrat kromatogenik yang tidak berwarna. Substrat ini kemudian menjadi berwarna karena dihidrolisis oleh enzim. Intensitas warna dapat diukur dan merupakan parameter untuk antigen yang diuji. Terdapat 2 macam metode ELISA, yaitu metode kompetitif dan indirek.

### a. Metode kompetitif.

Antibodi spesifik dilekatkan pada benda padat (partikel). Serum bersama dengan Ag-E direaksikan dengan antibodi tersebut.

Reaktan kemudian dicuci dan ditambah substrat kemudian diinkubasi. Hidrolisis substrat akan menyebabkan perubahan warna yang dapat dibaca dengan spektrofotometer.

b. Metode ELISA indirek ('sandwich')

Antigen dilekatkan pada permukaan benda padat(partikel). Spesimen yang mengandung antibodi direaksikan dengan antigen tersebut kemudian dicuci. Antiimmunoglobulin yang dilabel enzim ditambahkan, diinkubasi dan kelebihanya dicuci. Kemudian ditambahkan substrat kromogenik yang selanjutnya dihidrolisis oleh enzim. Banyaknya substrat yang dihidrolisis sesuai dengan banyaknya enzim yang menunjukkan banyaknya antibodi dalam spesimen. Hidrolisis biasanya berlangsung pada waktu tertentu dan reaksi dihentikan dengan memberikan larutan penghenti reaksi (stopping solution) yang biasanya terdiri dari asam atau basa kuat (IDAI, 2010). Kelebihan dari ELISA adalah tidak menggunakan bahan radioaktif. akhir-akhir ini metode ELISA berhasil ditingkatkan sensitivitas dan spesifisitasnya dengan menggunakan *nanowire field effect transistors* (FETs) yang berfungsi sebagai sensor untuk muatan molekul yang terikat. Metode ELISA ini dikenal dengan nano-electric (ne) ELISA.yang didasarkan atas kombinasi kekuatan konversi enzimatik substrat yang terikat dengan deteksi elektronik. Selain itu upaya meningkatkan sensitivitas dan spesifisitasnya juga telah dilakukan dengan *single molecule enzyme-linked immunosorbent assay* yang dapat mengukur protein pada konsentrasi *subfentomolar*.

Pada metode ini molekul protein ditangkap pada bitiran-butiran mikroskopis yang dilapisi antibodi spesifik kemudian kompleks imun dilabel dengan enzim yang dapat menghasilkan fluoresensi (Kresno, 2010).

### 3. RAST enzim

Alergen yang diperlukan dilekatkan pada kertas diskret, direaksikan selama inkubasi pertama dengan IgE spesifik dari serum contoh penderita. Setelah pencucian untuk membuang IgE non spesifik, tinggal kompleks IgE dan alergen pada diskret. Kemudian ditambahkan anti IgE manusia yang sudah dikonjugasi dengan enzim (misalnya galaktosa) sehingga terbentuk kompleks alergen-IgE-antiligE-enzim. Kelebihan antiligE-enzim dibuang dengan mencuci diskret. Enzim dibebaskan dengan zat pereduksi (misalnya glutation) untuk menghasilkan warna. Kadar IgE spesifik dihitung dengan menghitung intensitas warna dengan menggunakan fotometer kemudian dibandingkan dengan serum baku (IDAI, 2010).

### 2.9. Pemeriksaan IgE Total dengan ELISA

Pemeriksaan kadar IgE total dengan ELISA didasarkan pada prinsip *Enzyme immunoassay* (EIA). Monoclonal mouse-anti-human antibodi IgE terikat pada permukaan strip mikrotiter. Serum murni pasien atau standart siap guna dipipet ke dalam lubang piringan mikrotiter bersama dengan *anti-human-IgE-peroxidase conjugate*. Kompleks antara serum IgE dan dua antibodi berkembang setelah 30 menit diinkubasi pada temperatur ruangan, piringan

dibilas dengan *diluted wash solution*, dengan tujuan menghilangkan material yang tak terikat. Kemudian solusio substrat (TMB) dipipet dan diinkubasi untuk 15 menit, menginduksi perkembangan pewarna biru pada lubang. Perubahan warna tersebut diakhiri dengan penambahan solutio penyetop, yang mana perubahan warna dari biru ke kuning. Hasil pewarnaan diukur dengan spectrophotometri dengan panjang gelombang 450 nm. Konsentrasi IgE berbanding lurus dengan intensitas warna (Immunolab, 2007).

