

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Obesitas

1. Pengertian obesitas

Obesitas merupakan akumulasi lemak yang berlebihan atau tidak normal di dalam tubuh yang dapat mempengaruhi kesehatan (WHO, 2024). Sedangkan menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia obesitas merupakan kondisi di mana terjadi ketidakseimbangan antara asupan energi dan energi yang dikeluarkan, sehingga terjadi penumpukan lemak secara tidak normal (Kemenkes RI, 2023). Selain itu, pengertian obesitas adalah kondisi tubuh seseorang yang terjadi akibat ketidakseimbangan asupan energi antara kalori yang dikonsumsi dan dikeluarkan (Ibrahim *et al.*, 2021). Obesitas juga didefinisikan dengan berat badan yang meningkat lebih tinggi 20% dari nilai normal serta berkorelasi dengan kadar lipoprotein serum yang abnormal (Fruh, 2017). Obesitas adalah gangguan kompleks dalam metabolisme energi yang dipengaruhi oleh faktor biologis tertentu dan pengaturan nafsu makan. Peran faktor genetik sangat besar dalam perkembangan kondisi ini (Salim, Wihandani dan Dewi, 2021).

2. Penentuan obesitas

Obesitas pada seseorang dapat ditentukan dengan menghitung nilai IMT (Indeks Masa Tubuh) yang mencerminkan komposisi tubuh secara keseluruhan, termasuk otot, tulang, dan lemak. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa IMT mempunyai keterkaitan dengan kadar lemak tubuh. IMT dapat diketahui dengan membagi berat tubuh dalam kilogram (kg) dengan tinggi badan dalam meter kuadrat (m²) (Salim, 2021). Klasifikasi IMT dapat dilihat pada tabel 1, sebagai berikut:

Tabel 1
Klasifikasi IMT

No.	IMT (kg/m ²)	Klasifikasi
1	< 18,5	Berat badan kurang (<i>underweight</i>)
2	18,5 – 22,9	Berat badan normal
3	23 – 24,9	Kelebihan berat badan (<i>overweight</i>)
4	25 – 29,9	Obesitas tipe I
5	≥ 30	Obesitas tipe II

(Sumber: P2PTM Kemenkes, 2018)

3. Patofisiologi obesitas

Obesitas disebabkan karena jaringan lemak yang menyimpan energi yang berlebihan. Ketidakseimbangan energi ini dapat dipicu oleh faktor eksogen (obesitas primer), yang umumnya disebabkan oleh faktor nutrisi (90%), serta faktor endogen (obesitas sekunder), yang berkaitan dengan kelainan hormonal, sindrom, atau defek genetik (10%). Hipotalamus berperan dalam mengatur keseimbangan energi melalui tiga mekanisme fisiologis, diantaranya mengontrol rasa kenyang dan lapar, memengaruhi pengeluaran energi, serta mengatur sekresi hormon. Pengaturan penyimpanan energi terjadi melalui sinyal eferen yang dikendalikan oleh hipotalamus setelah menerima sinyal aferen dari jaringan perifer seperti jaringan lemak, usus, dan otot. Sinyal ini dapat bersifat anabolik, yang merangsang nafsu makan dan menurunkan konsumsi energi, atau bersifat katabolik, yang menekan nafsu makan (anoreksia) dan meningkatkan pengeluaran energi (Rachma, 2023).

Saat energi yang dikonsumsi melebihi kebutuhan tubuh, jumlah jaringan lemak akan bertambah, diikuti dengan peningkatan kadar leptin dalam sirkulasi darah. Leptin kemudian merangsang pusat anoreksigenik di hipotalamus untuk menekan produksi *Neuro Peptide Y* (NPY), sehingga nafsu makan berkurang. Sebaliknya,

jika energi lebih besar dibutuhkan daripada asupannya, jaringan adiposa berkurang dan pusat oreksigenik di hipotalamus teraktivasi, yang mengakibatkan meningkatnya nafsu makan. Mayoritas individu dengan obesitas mengalami resistensi terhadap leptin, sehingga meskipun kadar leptin dalam tubuh tinggi, pengendalian nafsu makan tetap tidak efektif. Mekanisme neurohumoral mengatur rasa lapar dan kenyang, yang disebabkan oleh faktor genetik, asupan nutrisi, kondisi psikologis dan lingkungan. Proses tersebut dipicu oleh respons metabolik yang terpusat di area hipotalamus (Cahyaningrum, 2015).

4. Faktor risiko penyebab obesitas

Adapun faktor risiko seseorang mengalami obesitas, diantaranya:

a. Genetik

Faktor genetik turut berperan dalam pembentukan lemak tubuh. Beberapa individu mewarisi kecenderungan untuk menyimpan lebih banyak lemak dibandingkan yang lain. Sifat metabolik yang diturunkan ini berkaitan dengan keberadaan gen yang mengatur aktivitas enzim lipoprotein lipase (LPL) yang lebih efisien. Faktor keturunan ini menentukan jumlah sel lemak yang melebihi ukuran normal dan dapat diwariskan kepada janin selama dalam kandungan. Di masa mendatang, sel-sel lemak tersebut akan berfungsi sebagai tempat penyimpanan lemak berlebih, meskipun ukurannya dapat mengecil, namun tetap tidak hilang dari tubuh (Putri, 2018).

Obesitas juga berkaitan dengan jenis kelamin. Wanita cenderung mengalami obesitas lebih sering daripada laki-laki. Hal tersebut terjadi karena metabolisme wanita yang lebih lambat dibandingkan pria. Tingkat metabolisme basal atau laju metabolisme saat istirahat pada wanita sekitar 10% lebih rendah dibandingkan pria.

Akibatnya, perempuan cenderung menyimpan makanan sebagai lemak, sementara laki-laki lebih banyak mengubah makanan menjadi otot dan cadangan energi yang siap digunakan. Selain itu, massa otot laki-laki lebih banyak daripada perempuan. Karena sel tubuh lainnya tidak membakar lemak sebanyak otot, perempuan mempunyai peluang yang lebih kecil untuk membakar lemak secara efektif (Saraswati et al., 2021).

b. Pola makan

Pola dan kebiasaan makan menjadi salah satu faktor utama yang memprediksi terjadinya obesitas. Selain berkaitan dengan frekuensi dan porsi makan yang berlebihan, tetapi juga dipengaruhi oleh kebiasaan mengonsumsi *junk food*, minuman dan makanan atau camilan dengan kadar gula tinggi, yang semuanya berkontribusi terhadap peningkatan risiko obesitas (Widyantari *et al.*, 2018). Pola makan berlebihan dapat menjadi salah satu penyebab obesitas. Kondisi ini terjadi ketika asupan kalori melebihi jumlah yang dibakar oleh tubuh. Meskipun tubuh memerlukan kalori untuk menjalankan fungsi vital dan aktivitas fisik, menjaga keseimbangan antara energi yang masuk dan keluar sangat penting untuk mempertahankan berat badan. Ketidakseimbangan energi dapat menyebabkan kelebihan berat badan dan obesitas, terutama jika mengonsumsi asupan berlebih dari makanan olahan instan, minuman bersoda, serta makanan cepat saji lainnya (Kurdanti et al., 2015).

c. Aktivitas fisik

Aktivitas fisik yang dijalankan sejak masa kanak-kanak hingga lanjut usia berperan penting dalam menjaga kesehatan sepanjang hidup. Obesitas yang terjadi pada masa anak-anak dapat meningkatkan risiko obesitas di usia dewasa.

Kurangnya aktivitas fisik serta gaya hidup sedentary telah banyak diteliti sebagai faktor risiko utama terjadinya obesitas. Mayoritas remaja yang mengalami obesitas diketahui hanya melakukan aktivitas fisik kurang dari satu jam dan kurang dari tiga kali dalam satu minggu (Choudhary *et al.*, 2017). Remaja yang hanya melakukan aktivitas fisik ringan memiliki risiko hingga enam kali lebih tinggi menderita obesitas (Banjarnahor *et al.*, 2017).

5. Komplikasi obesitas

Obesitas memicu peradangan yang disebabkan oleh gangguan keseimbangan energi, di mana asupan energi lebih besar daripada yang digunakan (Saltiel and Olefsky, 2017). Obesitas adalah salah satu tanda utama dari sindrom metabolik (Rinaldi *et al.*, 2016). Sindrom metabolik atau dikenal sebagai sindrom X, merupakan kondisi yang berkorelasi dengan obesitas sentral, resistensi insulin, dislipidemia, dan hipertensi yang terjadi karena peradangan kronis tingkat rendah (Francisqueti *et al.*, 2017).

Salah satu komplikasi obesitas yaitu sindrom metabolik yang dapat memicu penyakit kardiovaskular, diabetes mellitus tipe 2, osteoarthritis, dan kanker. Selain masalah kesehatan fisik, kondisi ini juga dapat berdampak pada psikologis, seperti meningkatkan risiko depresi. Sindrom metabolik dan obesitas berkembang akibat interaksi antara lingkungan dan faktor genetik (Widjaja *et al.*, 2020). Studi terdahulu menyatakan bahwa obesitas dikaitkan dengan peningkatan kematian dan berbagai komplikasi termasuk diabetes, penyakit jantung, demensia dan kanker. Bahkan obesitas tingkat rendah pun memiliki hubungan dengan tingginya risiko komplikasi dan penurunan berat badan tetap merupakan cara terbaik untuk mengatasi komplikasi (Kinlen *et al.*, 2018).

B. Lanjut Usia (Lansia)

1. Definisi lansia

Lansia adalah kelompok usia yang telah berada pada fase akhir kehidupan. Tahap ini merupakan fase terakhir dalam siklus hidup manusia, yang ditandai dengan berkurangnya kemampuan tubuh untuk menyesuaikan diri terhadap tekanan dari lingkungan sekitar. Usia memiliki kaitan dengan terjadinya obesitas sentral. obesitas dan obesitas sentral pada lansia sering disebabkan oleh berkurangnya aktivitas fisik dan perubahan hormonal yang mengakibatkan penimbunan lemak dalam tubuh. Usia yang semakin bertambah membuat komposisi tubuh mengalami perubahan karena penuaan seperti menurunnya massa tubuh sehingga berat badan bisa turun, namun persentase lemak tubuh justru meningkat (Oktaviani, 2016).

2. Kalsifikasi lansia

Berdasarkan klasifikasi Kemenkes RI tahun 2017, lansia dikelompokkan ke dalam tiga kategori, yaitu:

- a. Pra lansia yaitu usia 45-59 tahun.
- b. Lansia yaitu usia 60-69 tahun.
- c. Lansia berisiko tinggi yaitu usia ≥ 70 tahun.

C. Kulit Jeruk Bali

1. Klasifikasi



Gambar 1 *Citrus maxima* Merr
(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2024)

Klasifikasi tanaman jeruk bali sebagai berikut:

Kerajaan : *Plantae*
Divisi : *Magnoliophyta*
Kelas : *Magnoliopsida*
Subkelas : *Rosidae*
Ordo : *Sapindales*
Famili : *Rutaceae*
Genus : *Citrus*
Spesies : *Citrus maxima* Merr

Gambar 1 di atas merupakan gambar *Citrus maxima* Merr. *Citrus maxima* yang lebih dikenal oleh masyarakat sebagai jeruk bali, merupakan salah satu jenis tanaman jeruk yang banyak dibudidayakan di wilayah Asia Tenggara. Tanaman ini dapat ditemukan di berbagai daerah, terutama di pulau-pulau besar seperti Jawa, Kalimantan, Bali, Sulawesi, dan Sumatera (Filbert *et al.*, 2022).

2. Morfologi

Jeruk bali (*Citrus maxima Merr*) merupakan tanaman menahun (*perennial*) yang dapat tumbuh dengan ketinggian antara 5 hingga 15 meter. Batangnya cukup kokoh dengan diameter sekitar 10-30 cm, memiliki bagian dalam berwarna kuning dan kulit luar berwarna coklat kekuningan. Jeruk bali memiliki banyak cabang yang tersebar merunduk dan berjauhan di bagian ujungnya. Cabang muda berbentuk bersudut dengan warna hijau, kemudian berubah menjadi bulat dan berwarna hijau tua seiring waktu. Daunnya berukuran besar dengan bentuk bulat telur, ujung yang tumpul, serta tepi yang hampir rata, sementara bagian dekat ujungnya sedikit berombak. Posisi daun tersebar dengan tangkai daun yang bersayap lebar, berwarna kekuningan, dan memiliki bulu tipis yang tampak kusam. Buahnya berbentuk bulat atau menyerupai bola yang sedikit tertekan, dengan kulit yang relatif tebal dan berisi 11-16 segmen. Daging buahnya berwarna merah jambu, memiliki tekstur bervariasi dari keras hingga lunak, rasa yang manis hingga sedikit asam, serta mengandung sedikit biji (Ngurah *et al.*, 2015).

3. Kandungan

Kulit jeruk bali memiliki beragam manfaat terutama karena ekstrak etanolnya mengandung saponin, alkaloid, triterpenoid atau steroid, flavonoid, serta tanin yang bermanfaat sebagai antioksidan. Senyawa alkaloid dan flavonoid berperan sebagai antikoagulan. Flavonoid berperan dalam meningkatkan aktivator plasminogen jaringan (*tissue plasminogen activator*, t-PA) serta menekan produksi inhibitor aktivator plasminogen (*plasminogen inhibitor activator*, PAI). Hal ini menyebabkan konversi plasminogen menjadi plasmin meningkat, sehingga jumlah plasmin bertambah. Sementara itu, senyawa alkaloid berfungsi menghambat jalur

koagulasi, baik secara intrinsik maupun ekstrinsik, dengan menekan produksi FXa dan trombin, serta menghambat TNF- α yang dipicu oleh PAI-1 (Nurhayati et al., 2018).

D. Daun Stevia

1. Klasifikasi



Gambar 2 *Stevia rebaudiana*

(Sumber: Laila, 2014)

Kerajaan	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Subkelas	: <i>Asteridae</i>
Ordo	: <i>Asterales</i>
Famili	: <i>Asteraceae</i>
Genus	: <i>Stevia</i>
Spesies	: <i>Stevia rebaudiana</i>

Gambar 2 di atas merupakan gambar tanaman *Stevia rebaudiana*. Tanaman stevia tumbuh di Paraguay yang telah lama dibudidayakan di berbagai negara untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder dari kelompok glikosida steviol yang berguna sebagai pemanis alami (Luwańska et al., 2015). Daun stevia adalah

pemanis alami yang tidak memiliki efek karsinogenik memiliki tingkat kemanisan 100-200 kali kemanisan sukrosa dengan kandungan fitokimia terbesar adalah glikosida, steroid, dan tanin (Aina dkk., 2019). Meskipun dengan tingkat kemanisan yang tinggi daun stevia sebagai pemanis alami tidak menaikkan kadar gula darah di dalam tubuh (Nurrahman *et al.*, 2024).

2. Morfologi

Stevia rebaudiana anggota famili *Asteraceae* adalah semak semi lembab abadi kecil yang mencapai ketinggian hingga 30 cm atau bahkan 65 cm. Tumbuhan ini memiliki batang kayu tegak dengan *sessile* dan berlawanan lanset dengan daun lanset. Permukaan daun sedikit kelenjar memiliki dua ukuran trikoma yang berbeda (Pandey, 2018).

3. Kandungan

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mempelajari fitokimia *Stevia rebaudiana*. Uji fitokimia daun stevia mengandung steroid dan alkaloid yang banyak. Selain itu, daun stevia juga mengandung senyawa metabolit sekunder lainnya, seperti tanin, saponin, flavonoid, glikosida, sterol, triterpene, antraknon, senyawa pereduksi, vitamin C, asam folat, semua asam amino yang sangat diperlukan, diterpen nonglikosidat, asam klorogenat, nutrisi, vitamin, serta senyawa minor lainnya (Pandey, 2018).

E. Inflamasi

1. Pengertian inflamasi

Inflamasi diartikan sebagai suatu usaha aktivasi atau menghancurkan patogen yang menyerang, menghilangkan zat iritan dan mengatur pemulihan jaringan (Andriyono, 2019). Peradangan adalah bagian dari sistem pertahanan tubuh, di

mana sistem kekebalan mendeteksi dan menghilangkan zat asing berbahaya, seperti patogen, sel yang rusak, racun, serta paparan radiasi, sekaligus menjadi awal dari pemulihan (Da Silva et al., 2019). Peradangan juga ditandai oleh lima fenomena patologis mikroskopis, yaitu pembengkakan jaringan (tumor), peningkatan suhu jaringan (kalor), kemerahan akibat aliran darah di area yang meradang (rubor), rasa nyeri (dolor), serta gangguan fungsi organ yang terkena (*functio laesa*) (Buana et al., 2020).

2. Inflamasi pada obesitas

Jaringan lemak atau jaringan adiposa, berfungsi sebagai pengatur keseimbangan energi dalam tubuh. Terdapat dua jenis jaringan lemak, yaitu lemak putih dan lemak coklat. Lemak coklat berfungsi mengatur suhu tubuh, sedangkan lemak putih berperan utama dalam pengendalian energi. Selain itu, jaringan lemak juga menghasilkan sitokin, adipokin, dan hormon yang berkontribusi dalam menjaga keseimbangan energi dengan mengontrol sistem saraf serta aktivitas metabolik di organ perifer (Choe et al., 2016).

Dalam kondisi normal, jaringan lemak mengandung sel imun makrofag M2 yang berperan dalam menjaga integritas serta sensitivitas hormon, termasuk sensitivitas insulin pada adiposit, dengan memproduksi sitokin IL-10. Sel imun berada dalam keadaan Th2 dan membantu mengatur aktivitas limfosit T. Namun, pada kondisi obesitas, adiposit mengalami hipertrofi, dan makrofag mengalami polarisasi menjadi M1 yang bersifat proinflamasi, menghasilkan sitokin inflamasi seperti TNF- α . Peningkatan jumlah makrofag M1 yang lebih dominan dibandingkan M2 menyebabkan ketidakseimbangan antara sitokin proinflamasi dan antiinflamasi, yang pada akhirnya memicu peradangan kronis tingkat rendah

serta berkontribusi pada sindrom metabolik, seperti resistensi insulin (Widjaja *et al.*, 2020).

3. Dampak inflamasi pada tubuh

Sitokin pro inflamasi yang mulai meningkat pada individu obesitas memicu terjadinya sindrom metabolik yang merupakan kondisi ketidakseimbangan metabolisme yang meningkatkan risiko penyakit tidak menular (Anggraini and Laut, 2024). Selain permasalahan metabolik pada organ perifer, dampak inflamasi terkait obesitas juga berdampak pada perubahan fungsi otak, khususnya di area yang mengatur homeostasis energi dan metabolisme sistemik. Hipotalamus mengendalikan sirkuit neuroendokrin, termasuk sistem melanokortin, yang mengatur perilaku makan dan pengeluaran energi. Proses inflamasi pada individu obesitas fase awal dapat memainkan peran penting dalam mendukung respons adaptif, inflamasi yang berkepanjangan, angiogenesis, dan perluasan jaringan adiposa pada akhirnya menyebabkan resistensi insulin, fibrosis, disfungsi adiposit, dan kematian sel (Saltiel and Olefsky, 2017).

F. TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α)

1. Gambaran umum TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α)

Tumor necrosis factor- α (TNF- α) adalah sitokin yang memiliki efek pleiotropik terhadap berbagai tipe sel. Sitokin ini berfungsi sebagai pengatur utama dalam respon inflamasi dan berperan dalam proses perkembangan berbagai penyakit peradangan dan autoimun. Secara struktur, TNF- α merupakan protein homotrimer yang tersusun atas 157 asam amino, dan umumnya dihasilkan oleh makrofag yang telah teraktivasi, sel T, serta sel natural killer (Jang *et al.*, 2021).

TNF- α adalah sitokin proinflamasi yang diproduksi terutama oleh monosit atau makrofag dan berperan sebagai prototipe serta kemotraktan neutrofil dalam respons imunologis. Selain itu, TNF- α juga dapat dihasilkan oleh jaringan adiposa, limfosit, dan sel endotel. (Yusuf dan Legiran, 2024). TNF- α terdapat bentuk larut dan transmembran. TNF- α transmembran (tmTNF- α) merupakan bentuk prekursor yang awalnya disintesis dan diperlukan untuk diproses oleh enzim pengubah TNF- α (TACE), suatu metaloproteinase disintegrin yang terikat membran, agar dilepaskan sebagai TNF- α terlarut (sTNF- α) (Jiang *et al.*, 2017)

2. Ekspresi TNF- α (*Tumor Necrosis Factor- α*) pada obesitas

Pada kondisi obesitas, ekspresi TNF- α di jaringan lemak mengalami peningkatan dan berkorelasi positif dengan derajat penumpukan lemak (adipositas) serta munculnya resistensi insulin (Rahmawati *et al.*, 2014). TNF- α mempengaruhi metabolisme melalui dua mekanisme utama. Pertama, TNF- α mengatur ekspresi gen di jaringan lemak dan hati. Di jaringan lemak, TNF- α menekan ekspresi gen yang berperan dalam penyerapan serta penyimpanan *non-esterified fatty acid* (NEFA) dan glukosa, menghambat gen yang mengatur transkripsi dalam adipogenesis serta lipogenesis, serta mengubah ekspresi beberapa adipokin, seperti adiponektin dan IL-6. Sementara itu, di hati TNF- α menghambat ekspresi gen yang mengendalikan penyerapan, metabolisme glukosa, dan oksidasi asam lemak, namun meningkatkan ekspresi gen yang terlibat dalam sintesis kolesterol dan asam lemak. Kedua, TNF- α mengganggu jalur pensinyalan insulin. Gangguan ini terjadi akibat aktivasi serine kinase, yang meningkatkan fosforilasi serine pada insulin receptor substrate-1 dan -2 (IRS-1 dan IRS-2). Selain itu, TNF- α juga secara tidak

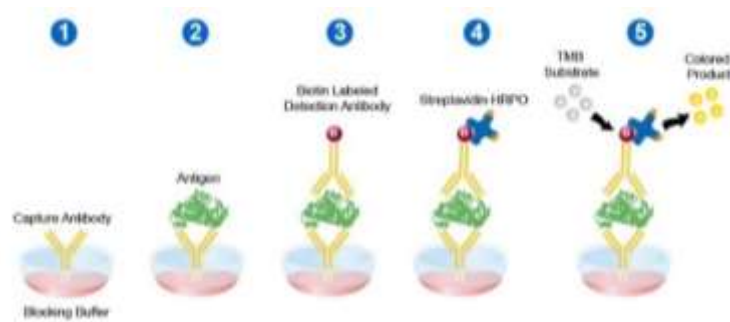
langsung menghambat sinyal insulin, yang pada akhirnya berkontribusi terhadap resistensi insulin di berbagai jaringan (Susantiningsih and Mustofa, 2018).

G. ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)

1. Prinsip ELISA

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) merupakan salah satu metode laboratorium, khususnya dalam imunologi, yang digunakan untuk menganalisis ekspresi protein, respons imun, dan reaksi imunitas. Teknik ini dimanfaatkan dalam imunologi untuk mendeteksi keberadaan antigen atau antibodi dalam sampel atau serum. Prinsip dasar ELISA adalah interaksi antara antigen dan antibodi yang berlabel enzim, kemudian ditambahkan substrat yang akan dihidrolisis, menghasilkan presipitat berwarna yang dapat dianalisis menggunakan ELISA reader. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) merupakan metode serologi yang banyak digunakan di laboratorium imunologi dengan memanfaatkan antibodi sekunder berlabel enzim. Keunggulan teknik ini meliputi prosedur yang relatif sederhana, biaya yang ekonomis, serta tingkat sensitivitas yang tinggi. Metode ELISA banyak dimanfaatkan dalam ilmu imunologi sebagai teknik untuk mendeteksi antibodi maupun antigen dalam sampel biologis. Jika tujuan pemeriksaan adalah mendeteksi antibodi, maka pelat ELISA dilapisi dengan antigen yang sesuai. Sebaliknya, jika ingin mendeteksi antigen, pelat tersebut akan dilapisi dengan antibodi yang sesuai (Santosa, 2020).

2. ELISA *sandwich*



Gambar 3 ELISA Sandwich

(Sumber: Excedr, 2023)

Metode ELISA *Sandwich* memiliki kesamaan dengan ELISA *Direct* dalam mendeteksi antigen yang diinginkan, namun perbedaannya terletak pada kebutuhan pemurnian antigen. Dalam ELISA *Sandwich*, antigen tidak perlu dipurifikasi terlebih dahulu. Teknik ini menggunakan antibodi primer untuk mengenali antigen dalam sampel, yang kemudian berikatan dengan antibodi sekunder berlabel enzim. Kompleks antara antigen, antibodi primer, dan antibodi sekunder akan menghasilkan perubahan warna setelah penambahan substrat, di mana intensitas warna yang terbentuk mencerminkan konsentrasi antigen dalam sampel. Pada metode ini, antigen yang dianalisis bersifat multivalen yang memiliki setidaknya dua sisi antigenik agar dapat berinteraksi dengan antibodi primer spesifik (antibodi penangkap) dan antibodi sekunder spesifik yang berlabel enzim (antibodi deteksi). Teknik ini mempunyai sensitivitas tinggi, sehingga sering digunakan untuk mendeteksi antigen dengan konsentrasi rendah dalam sampel yang memiliki tingkat kontaminasi tinggi (Santosa, 2020).