

Vol. 18, No. 3 Juli 2012

ISSN 0854-4263

INDONESIAN JOURNAL OF
**Clinical Pathology and
Medical Laboratory**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

IJCP & ML (Maj. Pat. Klin. Indonesia & Lab. Med.)	Vol. 18	No. 3	Hal. 147-210	Surabaya Juli 2012	ISSN 0854-4263
---	---------	-------	--------------	-----------------------	-------------------

Diterbitkan oleh Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Published by Indonesian Association of Clinical Pathologists

Terakreditasi No: 66b/DIKTI/KEP/2011, Tanggal 9 September 2011

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

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

DAFTAR ISI

PENELITIAN

- Pemeriksaan *Prothrombin Time* dan *Activated Partial Thromboplastin Time* dengan Humaclot VA Serta Sysmex CA 500
(Prothrombin Time and Activated Partial Thromboplastin Time Test's Result using Humaclot VA and Sysmex CA 500)
Misnah, Agus Alim Abdullah, Mansyur Arif, Burhanuddin Bahar 147-150
- Asosiasi HLA-DRB1* dan HLA-DQB1* dengan IgM-RF Serum pada Arthritis Reumatoid
(Association HLA-DRB1 and HLA-DQB1* with Serum IgM-RF-on Rheumatoid Arthritis)*
Joewono Soeroso, FM Judajana, H Kalim 151-156
- Platelet Demam Berdarah Dengue
(Platelets of Dengue Haemorrhagic Fever)
PR Ayu, U Bahrun, M Arif 157-160
- Nilai Diagnostik **Antigen TB** dengan *Rapid Test Device* (TB Ag) untuk Tuberkulosis Paru
(The Diagnostic Value of TB Antigen Using Rapid Test Device (TB Ag) for Pulmonary Tuberculosis)
Sri Kartika Sari, Aryati 161-167
- Bakteri Aerob Patogen dan Uji Kepekaan Antimikroba di Ruang Perawatan Penyakit Dalam
(Antimicrobial Susceptibility Test of Pathogenic Aerobic Bacteria at the Internal Medicine Ward)
Fedelia Raya, Nurhayana Sennang, Suci Aprianti 168-171
- Korelasi Fungsi Hati terhadap Derajat Penyakit Demam Berdarah Dengue Anak
(Correlation of Liver Functions Test, and the Grade of Dengue Hemorrhagic Fever in Children)
Ani Kartini, Mutmainnah, Ibrahim Abdul Samad 172-175
- Cryptosporidiosis Paru di Penderita TBC
(Pulmonary Cryptosporidiosis in TBC Patients)
R. Heru Prasetyo 176-178
- Mycobacterium Tuberculosis dan PCR
(Mycobacterium Tuberculosis and PCR)
Yuyun Widaningsih, Ismawati Amin, Nurhayana Sennang, Uleng Bahrun, Mansyur Arif 179-183
- Imunisasi Protein Adhesin 38-kDa Mycobacterium Tuberculosis Lewat Rongga Mulut Terkait Sel T CD8+ di Paru
(Oral Immunization with 38-kDa Adhesin Protein of Mycobacterium tuberculosis on CD8+ T Cells in Lung)
Maimun Z Arthamin, Agus A Gani, Nurani Issiyah, Sanarto Santoso 184-190
- Hitung Trombosit di Sindrom Koroner Akut Terkait Low Molecular Weight Heparin (LMWH)
(Thrombocytes Count in Acute Coronary Syndrome Related to Low Molecular Weight Heparin (LMWH))
Cyntia Kornelius, Darwati Muhadi, Mansyur Arif 191-194

TELAAH PUSTAKA

- Perlemakan Hati Akut di Kehamilan
(Acute Fatty Liver of Pregnancy)
Meiti Muljanti, Leonita Anniwati, Juli Soemarsono 195-202

LAPORAN KASUS

Cold Agglutinin pada Penderita *Community Acquired Pneumonia*
(*Cold Agglutinins in A Community Acquired Pneumonia Patient*)

Johanis, Juli Soemarsono 203–208

INFORMASI LABORATORIUM MEDIK TERBARU 209–210

NILAI DIAGNOSTIK ANTIGEN TB DENGAN RAPID TEST DEVICE (TB AG) UNTUK TUBERKULOSIS PARU

(The Diagnostic Value of TB Antigen Using Rapid Test Device (TB Ag) for Pulmonary Tuberculosis)

Sri Kartika Sari, Aryati

ABSTRACT

In Indonesia, the diagnosis of pulmonary tuberculosis relies primarily on an identification of acid-fast bacilli on sputum smears. However, microscopic device has several limitations. The sensitivity of microscopic examination is variable. The quality of smear microscopic results is heavily depend on the workload, and the skill of the technician's reading the slide. TB antigen rapid test device (TB Ag) is fast, easy and does not either need skillness of the operator. The kit detects specific secreted antigen *M.tuberculosis* coded by: RD (Region of Difference) 1, RD2 and RD3. These RD1-3 were found deleted from BCG (*Bacille Calmette-Guerine*) vaccine strain. In the present study, the diagnostic value of TB Ag was assessed. Sputum samples were examined from 59 suspected tuberculosis patients and 22 non tuberculosis patients. The samples of the suspected tuberculosis patients were collected as three consecutive sputum specimens (spot, morning, spot). The total 199 specimens were examined by sputum smear microscopy and TB Ag. *M.tuberculosis* culture by using Lowenstein Jensen media, which was used as a gold standard. The sensitivity and specificity of microscopic sputum smear were 83.8% (95% CI: 70.0-89.4) and 96.3% (95% CI: 89.8-98.7), respectively. While, the sensitivity and specificity of TB Ag were 72.6% (95% CI: 63.9-79.9) and 90.9% (95% CI: 72.2-97.5), respectively. The concordance between microscopic sputum smear and TB Ag was 70.8%. TB Ag can be considered as a new diagnostic tool for the diagnosis of pulmonary tuberculosis, especially at the health services where there is no expert technician available for microscopic sputum smear examination.

Key words: Sputum smear microscopy, TB antigen rapid test device, diagnostic values

ABSTRAK

Diagnosis tuberkulosis paru di Indonesia hingga saat ini masih berdasarkan pada pemeriksaan mikroskopis BTA dahak. Mikroskopis BTA memiliki keterbatasan. Kepekaan mikroskopis BTA sangat beragam bergantung beban kerja, keterampilan, dan motivasi petugas dalam membaca sediaannya. Alat uji antigen TB cepat (TB Ag) uji tertentu yang cepat, mudah, praktis, dan tidak memerlukan keterampilan khusus. Uji ini untuk menemukan secreted antigen *M.tuberculosis* yang disandi gen RD (daerah perbedaan/region of difference) 1, RD2 dan RD3. Regio genomik RD1-3 ini terhapus di semua galur *M. bovis* BCG dan sebagian besar mikobakteria lingkungannya. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui nilai diagnostik TB Ag dalam mendiagnosis tuberkulosis paru. Sampel penelitian ini adalah dahak dari 59 orang terduga tuberkulosis dan 22 orang nontuberkulosis. Setiap sampel terduga tuberkulosis diambil tiga (3) spesimen (sewaktu-pagi-sewaktu/SPS), sedangkan sampel nontuberkulosis diambil satu (1) spesimen. Setiap spesimen diperiksa secara mikroskopis BTA (Basil Tahan Asam) dan menggunakan alat uji antigen TB Ag cepat. Kultur *M.tuberculosis* di media Lowenstein Jensen yang merupakan bakuan emas. Kepekaan dan kekhasan mikroskopis BTA masing-masing 83,8% (95% CI: 70,0-89,4) dan 96,3% (95% CI: 89,8-98,7). Kepekaan dan kekhasan TB Ag masing-masing 72,6% (95% CI: 63,9-79,9) dan 90,9% (95% CI: 72,2-97,5). Kesesuaian hasil pemeriksaan mikroskopis BTA dan TB Ag sebesar 70,8%. Unit pelayanan kesehatan yang belum memiliki petugas terlatih untuk pemeriksaan mikroskopis BTA dapat menggunakan TB Ag untuk membantu mendiagnosis tuberkulosis paru.

Kata kunci: Mikroskopis BTA, alat uji antigen TB cepat, nilai diagnostik

PENDAHULUAN

Tuberkulosis merupakan penyebab terbesar kesakitan dan kematian di dunia. Di antara 22 negara dengan jumlah penyakit tuberkulosis tinggi, Indonesia adalah negara keempat terbesar di dunia.¹

Mycobacterium tuberculosis diperkenalkan oleh Robert Koch pada tahun 1882 sebagai mikroba penyebab tuberkulosis. Kekurangan sarana diagnostik dan sistem

diagnosis laboratorik lemah untuk tuberkulosis aktif telah menyebabkan diagnosis yang kurang atau berlebihan, dan keterlambatan diagnosis terkait dengan resistensi obat.²

Lebih dari 90% penderita tuberkulosis berada di negara dengan tingkat pendapatan menengah dan rendah. Diagnosis tuberkulosis di negara ini terutama mengandalkan pengenalan kuman (basil) tahan asam di dahak dengan metode mengecat menurut Ziehl-

Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga RSUD Dr. Soetomo Surabaya, Jawa Timur, Indonesia.
E-mail: srikartikas@yahoo.com

Neelsen (ZN) dengan menggunakan mikroskop yang konvensional memakai cahaya. Strategi *Direct Observed Treatment Short-course (DOTS)* memfokuskan pada penemuan kasus secara pasif untuk pasien BTA positif. Bagi pasien yang datang ke pelayanan kesehatan dengan gejala batuk lebih dari 2–3 minggu, dahak diperiksa tiga (3) kali (sewaktu-pagi-sewaktu/SPS) untuk pemeriksaan mikroskopis langsung. Cara ini relatif mudah, murah, dapat diterapkan secara luas dan sangat khusus untuk *Mycobacterium tuberculosis* di negara endemik tuberkulosis.³ Cara pemeriksaan mikroskopis langsung ini memiliki banyak keterbatasan.^{2,3} Beberapa penelitian menunjukkan kepekaan beragam antara 20–80%.^{3–5} Di samping itu, kepekaan pemeriksaan mikroskopis juga rendah di kasus dengan jumlah bakteri yang sedikit (*paucibacillary*), seperti di kasus anak dan koinfeksi *Human Immunodeficiency Virus (HIV)*-TB.^{3,4} Hal lain yang menambah permasalahan adalah mutu hasil pemeriksaan mikroskopis langsung BTA sangat bergantung beban kerja, keterampilan dan motivasi teknisi membaca *slide*.^{2–4}

Kultur *Mycobacterium tuberculosis* merupakan baku emas untuk diagnosis tuberkulosis yang aktif.^{6,7} Penemuan *Mycobacteria tuberculosis* dengan teknik kultur yang tersedia saat ini memerlukan waktu lama dan sering memberikan hasil negatif untuk kasus *paucibacillary*.²

Saat ini telah diketahui protein antigen yang disandi genom *Mycobacterium tuberculosis* dan ditunjukkan sebagai *Region of Difference (RD)*.⁸ Pemeriksaan genom *Mycobacterium tuberculosis* dengan menggunakan *subtractive hybridization* dan deretan relik DNA (*DNA microarray*) telah dapat mengenali bagian genom tertentu. Bagian tersebut ialah RD1, yang ada di kompleks *Mycobacterium tuberculosis*, tetapi tidak terdapat di semua galur *Mycobacterium bovis Bacillus Calmette-Guerin (BCG)* dan pada hampir semua mikobakteria lingkungan. Hasil dari gen RD1 memberikan perkembangan kemampuan tertentu untuk menguji diagnostik baru, yang dapat membedakan infeksi *Mycobacterium tuberculosis* akibat pemberian vaksin BCG dan pajanan mikobakteria lingkungannya.⁹

Alat uji TB Ag cepat menemukan *specific secreted antigen* RD1, RD2, dan RD3. Penelitian ini akan menilai diagnostik alat uji TB Ag cepat untuk diagnosis tuberkulosis paru dengan “persiapan” yang sama dengan pemeriksaan dahak BTA yang sampai saat ini digunakan, yaitu menggunakan spesimen dahak yang diambil tiga (3) kali (Sewaktu-Pagi-Sewaktu/SPS).

METODE

Penelitian ini merupakan kajian analitik amatan dengan rancangan potong lintang.

Jumlah Populasi Penderita

Penelitian dilakukan pada bulan Februari sampai dengan Agustus 2011. Sampel penelitian ini adalah dahak dari 59 penderita terduga tuberkulosis di RS Paru Surabaya dan 22 penderita non tuberkulosis di Ruang Rawat Inap Paru RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Dahak yang dikumpulkan dari penderita terduga tuberkulosis meliputi tiga (3) spesimen SPS (sewaktu-pagi-sewaktu), sedangkan penderita non tuberkulosis hanya satu (1) spesimen pagi.

Pemeriksaan Mikroskopis BTA

Pemeriksaan mikroskopis BTA dilakukan di laboratorium RS Paru Surabaya.

Kultur *M.tuberculosis*

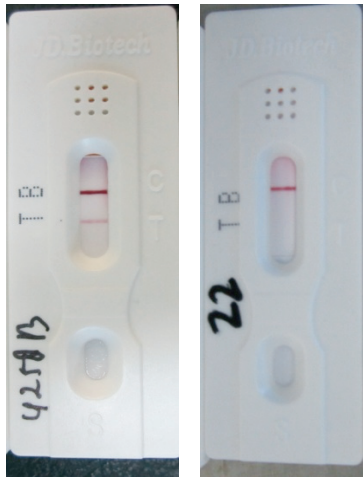
Kultur *M.tuberculosis* di media *Lowenstein Jensen* dilakukan di laboratorium BBLK (Balai Besar Laboratorium Kesehatan) Surabaya.

Tatalangkah Pemeriksaan

Alat uji antigen TB cepat

Pemeriksaan alat uji antigen TB cepat dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Asas yang digunakan dalam uji ini adalah *double antibodies chromatographic lateral flow immunoassay*. Cairan sampel akan mengalir ke daerah berdaya serap dan membran. Jika dalam sampel terdapat antigen *M.tuberculosis*, maka antigen akan berikatan dengan antibodi konjugat yang ditandai dan membentuk kompleks antigen antibodi. Komplek ini mengalir ke membran dan selanjutnya kompleks ini ditampung bersama *immobilized antibody* pada kawasan uji (T) dari membran dan menghasilkan pita berwarna merah muda. Reagen *dye-conjugate* lain ditampung bersama *immobilized antibody* pada kawasan uji pengendali (C). Pita berwarna merah muda di kawasan C menunjukkan bahwa pengujian bekerja dengan baik.

Cara kerja: 1,5 mL larutan bufer dipipet ke dalam tabung sampel, selanjutnya 0,2–0,3 mL dahak ditambahkan ke dalam tabung tersebut. Kemudian dicampur selama 30–60 detik dengan baik dan ditunggu sampai 30 menit. Sesudah itu diambil supernatan sebanyak 2–4 tetes atau 100–200 µl dan dimasukkan ke dalam daerah S di alat uji TB Ag cepat, dan hasilnya dibaca setelah 15 menit. Penafsiran hasil: positif bila terdapat pita merah muda di pengendali (C) dan uji (T), negatif bila terdapat pita merah muda di pengendali (C) saja, dan tidak sah (invalid) bila tidak ada pita di C dan T.



Gambar 1. Perangkat alat uji antigen TB cepat. Gambar kiri menunjukkan hasil positif dan gambar kanan menunjukkan hasil negatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ciri Sampel

Jumlah sampel penelitian adalah sebanyak 81 orang, terdiri dari 59 penderita terduga TB dan 22 penderita non TB. Ciri sampel seperti yang tercantum di Tabel 1.

Hasil Mikroskopis Langsung BTA

Hasil kultur TB dari 59 sampel penderita terduga TB menunjukkan 39 (66,1%) kultur TB positif, 20 (34,9%) kultur TB negatif. Di antara 20 kultur TB negatif,

Tabel 1. Ciri sampel

Ciri	Terduga TB	Non TB
Jenis kelamin laki-laki	31 (52,5%)	12 (54,5%)
Jenis kelamin perempuan	28 (47,5%)	10 (45,5%)
Rerata umur	43,2 tahun	48,8 tahun
Simpang baku umur	15,5	14,7
Rentang umur	17-78 tahun	19-71 tahun

sebanyak tiga (3) penderita menunjukkan hasil MOTT (*Mycobacterium Other than Tuberculosis*). Di antara 39 penderita terduga TB yang kulturnya positif, sebanyak 34 (87,2%) orang merupakan terduga TB BTA positif (sesuai Depkes dengan patokan terduga BTA positif) dan 5 orang (12,8%) merupakan terduga TB BTA negatif (sesuai Depkes dengan patokan terduga BTA negatif).¹⁰

Sebanyak 82 spesimen dengan kultur TB negatif hasil pemeriksaan mikroskopisnya, 3 contoh (3,6%) BTA positif dan 79 contoh (96,3%) BTA negatif (Tabel 2).

Periksaan mikroskopis BTA bila dibandingkan dengan hasil kultur TB di media LJ menunjukkan ada perbedaan yang bermakna ($p=0,001$) dengan nilai ζ (kappa) 0,778 ($p=0,0001$).

Hasil pemeriksaan dengan alat uji TB Antigen cepat

Pemeriksaan dengan alat uji antigen TB cepat pada penelitian ini menggunakan perangkat bernomor lot JDTB110104 ED 03 Juni 2012 dan lot JDTB110222 ED 21 Agustus 2012. Hasil pemeriksaan alat uji antigen

Tabel 2. Hasil pemeriksaan mikroskopis BTA dibandingkan dengan baku emas kultur TB untuk spesimen penderita terduga TB dan non TB

Pemeriksaan BTA	Kultur TB terduga TB		Kultur TB non TB	Jumlah keseluruhan
	Positif	Negatif	Negatif	
Positif	98 (83,8%)	3 (5,0%)	0 (0%)	101 (50,7%)
Negatif	19 (16,2%)	57 (95,0%)	22 (100%)	98 (49,3%)
Jumlah keseluruhan	117 (100%)	60 (100%)	22 (100%)	199 (100%)

Tabel 3. Uji diagnostik mikroskopis BTA dengan baku emas kultur TB media LJ

Uji diagnostik	%	Selang kepercayaan 95%
Kepekaan	83,8	76,0-89,4
Kekhasan	96,3	89,8-98,7
Nilai ramal positif	97,0	91,6-99,0
Nilai ramal negatif	80,6	71,7-87,2

Tabel 4. Hasil pemeriksaan TB Ag dan kultur TB spesimen penderita terduga TB dan non TB

Pemeriksaan TB Ag	Kultur TB terduga TB		Kultur TB non TB	Jumlah keseluruhan
	Positif	Negatif	Negatif	
Positif	85 (72,6%)	25 (41,7%)	2 (9,1%)	112 (56,3%)
Negatif	32 (27,4%)	35 (58,3%)	20 (90,9%)	87 (43,7%)
Jumlah keseluruhan	117	60	22	199

Tabel 5. Hasil pemeriksaan TB Ag cepat spesimen pada penderita non TB

Diagnosis	Hasil pemeriksaan antigen	
	Jumlah positif	Jumlah negatif
Tumor paru	1	9
Radang parenkhim paru (pneumonia)		3
Radang cabang tenggorok (bronkitis)	1	3
Asma		1
Tumor selaput paru tengah (mediastinum)		2
Rongga bernanah (abses) paru		1
Malignant tymoma		1
Jumlah keseluruhan	2	20

TB cepat dari 199 spesimen terduga TB dan non TB menunjukkan 73 (36,7%) positif, 71 (35,7%) negatif, dan 55 (27,6%) tidak sah. Kemudian ke-55 spesimen yang ragu (tidak sah) diulang periksa. Hasil pemeriksaan ulang menunjukkan bahwa ke-39 spesimen positif dan 16 spesimen negatif.

Tabel 6. Uji Diagnostik TB Ag dengan baku emas kultur TB media LJ

Uji diagnostik	%	Selang kepercayaan 95%
Kepekaan	72,6	63,9–79,9
Kekhasan	90,9	72,2–97,5
Nilai ramal positif	97,7	92,0–99,4
Nilai ramal negatif	38,5	26,5–52,0

Hasil pemeriksaan TB Ag cepat di seluruh spesimen, dibandingkan dengan kultur TB sebagai baku emas, tercantum di tabel 7 bawah ini.

Tabel 7. Hasil pemeriksaan TB Ag dibandingkan dengan kultur TB di media LJ seluruh spesimen

Pemeriksaan TB Ag	Kultur TB terduga TB		Jumlah keseluruhan
	Positif	Negatif	
Positif	85 (72,6%)	27 (32,9%)	112 (56,3%)
Negatif	32 (27,4%)	55 (67,1%)	87 (43,7%)
Jumlah keseluruhan	117 (100%)	82 (100%)	199 (100%)

Bila nilai kekhasan dihitung berdasarkan hasil pemeriksaan sampel dengan hasil kultur negatif di kelompok terduga TB dan non TB, maka hasil uji diagnostik sebagaimana yang tercantum pada tabel 8.

Tabel 8. Uji diagnostik TB Ag dengan baku emas kultur TB media LJ

Uji diagnostik	%	Selang kepercayaan 95%
Kepekaan	72,6	63,5–80,3
Kekhasan	67,1	55,7–76,8
Nilai ramal positif	75,9	66,7–83,3
Nilai ramal negatif	63,2	52,1–73,1

Pada penelitian ini perlu diketahui, dari 20 orang kultur TB negatif, tiga (3) orang di antaranya adalah

MOTT dan sembilan (9) spesimen yang berasal dari penderita tersebut menunjukkan hasil: dua (2) spesimen TB Ag positif dan tujuh (7) spesimen TB Ag cepat negatif. Sebanyak 23 spesimen dari sembilan (9) penderita yang menunjukkan hasil kultur TB negatif. Namun, hasil TB Ag positif dilakukan pemeriksaan secara PCR TB. Hasil pemeriksaan PCR TB, hanya satu (1) penderita yang menunjukkan hasil positif.

Pemeriksaan TB Ag bila dibandingkan dengan kultur TB media LJ menunjukkan ada perbedaan yang tidak bermakna ($p=0,603$) dan memiliki kesesuaian yang baik, dengan nilai ζ (kappa) 0,394 ($p=0,0001$).

Perbandingan hasil pemeriksaan mikroskopis BTA dan TB Ag di kelompok terduga TB

199 spesimen sebanyak 77 buah hasil pemeriksaan TB Ag mikroskopis BTA menunjukkan hasil positif dan 63 spesimen menunjukkan hasil negatif yang sama. Kesesuaian antara hasil pemeriksaan TB Ag secara mikroskopis BTA adalah sebesar 70,8%. Pemeriksaan TB Ag bila dibandingkan dengan yang mikroskopis BTA menunjukkan ada perbedaan yang tidak bermakna ($p=0,193$) dan memiliki kesesuaian yang baik, dengan nilai ζ (kappa) 0,406 ($p=0,0001$).

Lebih dari 90% penderita tuberkulosis berada di negara dengan pendapatan rendah hingga menengah. Di negara tersebut diagnosis tuberkulosis terutama mengandalkan pada pengendalian BTA pada pengecatan dahak, dengan menggunakan mikroskop konvensional menggunakan cahaya. Pemeriksaan mikroskopis memang relatif mudah, murah, dapat digunakan secara luas dan khusus untuk *M.tuberculosis* di negara endemis tuberkulosis. Pemeriksaan mikroskopis ini juga memiliki beberapa keterbatasan. Kemungkinan terjadi kesalahan pembacaannya cukup besar, karena tugasnya kurang terlatih. Mutu dahak yang kurang baik juga menyebabkan kepekaan pemeriksaan BTA rendah. Di beberapa telitian telah dilaporkan bahwa kepekaannya lebih dari 80%, tetapi di telitian lain dilaporkan lebih rendah dan keragamannya antara 20–80%. Lebih lanjut, kepekaan mikroskopis BTA di *paucibacillary disease* rendah.³

Pemeriksaan mikroskopis BTA

Di Indonesia, pemeriksaan mikroskopis BTA merupakan cara menemukan langsung kuman TBC masih sebagai andalan dalam mendiagnosis tuberkulosis paru. Hal ini sesuai dengan alur pedoman diagnosis Depkes tahun 2002. Pada penelitian ini, kepekaan dan kekhasan mikroskopis BTA masing-masing sebesar 83,8% dan 96,3% (lihat tabel 2). Kepekaan dan kekhasan pemeriksaan mikroskopis BTA yang cukup baik berkaitan erat dengan mutu dahak dan keterampilan petugas. *The International Union Against Tuberculosis and Lung Disease* (IUATLD) menganjurkan beban per teknisi per hari kerja rata-rata 20 *slide*. Beban yang melebihi kemudahan dan tenaga, jumlah keseluruhan *slide* yang harus dikerjakan melebihi kemampuan petugas per hari kerja akan menyebabkan mutu pelayanan diagnostik yang rendah.¹¹

Kepekaan mikroskopis BTA pada penelitian ini mencapai 83,8%. Spesimen dengan hasil BTA negatif tetapi menunjukkan hasil kultur TB positif, berjumlah sebanyak 19 (16,2%). Hal ini dapat dipahami, karena untuk mendapatkan hasil mikroskopis BTA positif, memerlukan sedikitnya 10.000 kuman per mL dahak, sedangkan kultur memerlukan lebih sedikit mikobakteria, yaitu 10–1000 kuman per mL spesimen.¹² BTA yang tampak pada dahak atau sampel klinis lainnya sebaiknya dipertimbangkan sebagai dugaan tuberkulosis, karena dilakukan dengan teknik pengecatan yang tidak khusus untuk mengenali *M.tuberculosis*. Kejadian positif palsu mikroskopis BTA sangat rendah bila dilakukan dengan kendali mutu yang baik.¹² Seperti pada penelitian ini, jumlah BTA positif yang hasil kultur negatifnya hanya tiga (3) spesimen (9,1%), dan setelah dilakukan lewat PCR, spesimen ini menunjukkan hasil positif *M.tuberculosis*.

Pemeriksaan dengan alat antigen TB cepat (TB Ag)

Pada penelitian ini, sebanyak 55 (27,5%) dari 199 spesimen, pemeriksaan TB Ag menunjukkan hasil yang tidak sah. Sebagian besar ujian yang tidak sah disebabkan karena sampel dahak yang sangat kental, sehingga tidak dapat mengalir dengan baik di membran. Setelah diulang pengujiannya dengan tatalangkah di luar perangkat petunjuk, seperti menambah lama waktu pengocokan, inkubasi dan pengenceran dengan bufer sampel, maka hasil ragu menjadi pasti.

Dahak merupakan hasil sekresi trakeobronkial, yang terdiri atas campuran plasma, air, elektrolit dan lendir (musin). Susunan kimiawi dahak terdiri dari: 95% air dan 5% bentuk padat. Bentuk padat utama adalah karbohidrat, protein, lemak dan DNA.¹⁴ Terdapat kemungkinan partikel padat dan musin yang kental menutup pori membran nitroselulosa, sehingga sampel

dahak tidak dapat mengalir dengan baik saat ujian perangkat. Bila perlu dilakukan pencernaan (*digestion*) dahak sebelum diuji.

Beberapa metode *digestion-decontamination* dapat digunakan bahan: NaOH, *Zephiran-trisodium phosphate*, dan *N-acetyl-L-cysteine*(NALC)–NaOH. NaOH biasa digunakan untuk dekontaminasi dan mukolitik. Beberapa bahan dapat digunakan untuk pencairan (*liquefaction*) spesimen, termasuk di sini: NALC, *dithiothritol* dan enzim. Pencairan mengeluarkan organisme dalam musin atau sel dapat ditingkatkan dengan mencampur kuat menggunakan *vortex mixer*.¹¹

Mycobacterium yang menyebabkan tuberkulosis di manusia dan atau hewan dikelompokkan dalam *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC). *Mycobacterium* yang digolongkan ke dalam MTBC memiliki kesamaan 99,9% nukleotida dan 16S rRNA, walaupun berbeda inang, fenotip dan patogenitasnya. *M.tuberculosis*, *M. africanum*, *M. microti* dan *M. bovis* telah dianggap sebagai empat spesies tradisional dari MTBC.^{13,14}

Region of difference (RD) menyandi protein yang di antaranya berperan sebagai antigen yang berkemampuan untuk mendiagnosis tuberkulosis tersembunyi dan aktif. Beberapa antigen yang disandi oleh RD dalam genom *M.tuberculosis*, *M. africanum*, *M.bovis*, tidak didapatkan pada semua dasar galur BCG dan berbagai mikobakteria lingkungan.¹⁹ Tiga genomik RD yaitu RD1, RD2 dan RD3 dihilangkan di BCG.^{15,18}

Alat uji antigen TB cepat (TB Ag) untuk menemukan antigen *M.tuberculosis* dalam dahak. Antibodi monoklon terhadap antigen yang disandi oleh gen RD1, RD2 dan RD3 digunakan untuk menemukan antigen ESAT-6, CFP-10 dan MPb64. Penelitian Arias-bouda dkk, yang mengembangkan tatapenemuan antigen LAM (*Lipoarabinomanan*) dalam dahak dengan metode ELISA, menemukan kepekaan 91% dan kekhasannya 100%.¹¹ Pada pemeriksaan temuan antigen, prapenanganan (*pretreatment*) sampel merupakan hal yang penting, tetapi seringkali memerlukan banyak tenaga dan waktu. Reaksi non khusus seringkali terjadi karena ada reaksi silang bahan yang ada dalam spesimen tidak diberi perlakuan sebelumnya.¹¹ Pada penelitian ini, pemeriksaan dengan TB Ag tidak diberi perlakuan. Hal ini memungkinkan terjadinya reaksi silang, sehingga sebanyak 25 (41,7%) sampel yang kultur TB-nya negatif, tetapi hasil TB Ag-nya positif. Demikian pula, pada dua (2) sampel non TB yang hasil kultur negatif, TB Ag positif, kemungkinan disebabkan oleh reaksi silang ini.

Dahak yang akan diuji TB Ag-nya tidak diberi perlakuan dengan menggunakan NaOH, maupun bahan lain seperti *NALC-proteinase K*. Sebelum diuji, dahak diencerkan dengan bufer sampel yang berisi 0,1 *Tris-Hcl* pH 7,5 dan 0,1% *sodium azide*. Penggunaan NaOH di

antigen yang *alkali labile* dapat merusak epitop yang dikenal oleh *capture antibody*.¹¹ Oleh karena itu, untuk uji TB Ag tidak dianjurkan penggunaan NaOH.

ESAT-6, CFP-10, MPb64 disandi oleh gen RD1 dan RD2. RD1 dan RD2 tidak hanya terdapat di *M. tuberculosis*, tetapi juga terdapat di *M. bovis*, *M. microti* dan *M. africanum*. Dengan demikian sampel yang menunjukkan hasil TB Ag yang positif, tetapi kultur TB-nya negatif kemungkinan juga disebabkan karena reaksi silang dengan *M. bovis*, *M. microti* dan *M. africanum*, walaupun infeksi *mycobacteria* ini jarang di manusia. *M. bovis*, *M. microti* dan *M. africanum* tidak dapat menggunakan gliserol sebagai sumber karbon karena tidak memiliki piruvat kinase. Hal tersebut menyebabkan, organisme ini tidak akan tumbuh di media LJ yang berisi gliserol sebagai satu-satunya sumber karbon. Hal ini juga yang menyebabkan perkiraan kejadian *M. bovis* sebagai penyebab TB di manusia yang rendah, terutama di negara berkembang.¹³

Perbandingan hasil pemeriksaan mikroskopis BTA dengan alat uji Antigen TB cepat (TB Ag)

Kepekaan mikroskopis BTA 83,8% ternyata lebih tinggi dibandingkan dengan TB Ag yang kepekaannya sebesar 72,6%. Hal ini kemungkinan disebabkan karena ada gejala pengaruh *Hook* yaitu terdapat kelebihan antigen yang dapat menjenuhkan antibodi, sehingga konfigurasi *sandwich* tidak dapat terbentuk dan menyebabkan hasil negatif.^{19,20} Sehubungan penjelasan di atas, maka pada penelitian ini kemungkinan ada kadar analit yang berlebihan yang akan menyebabkan hasil negatif, sehingga kepekaan TB Ag menjadi lebih rendah daripada mikroskopis BTA. Pencairan yang kurang juga dapat menyebabkan kepekaan TB Ag menjadi lebih rendah dibandingkan dengan pemeriksaan mikroskopis BTA.

Keterbatasan penelitian

Di sampel dahak yang kental, tatalangkah pemeriksaan TB Ag yang dilakukan tidak sama, bergantung tingkat kekentalannya. Lama pengocokan, inkubasi dan tingkat pengenceran menjadi beragam. Tatalangkah pemeriksaan yang ada di dalam perangkat alat uji Antigen TB cepat, tidak mencantumkan secara jelas tatalangkah untuk sampel dahak yang kental.

SIMPULAN DAN SARAN

Kepekaan dan kekhasan menggunakan alat uji Antigen TB cepat, masing-masing sebesar 72,6% dan 90,9%, sedangkan mikroskopis BTA masing-masing sebesar 83,8% dan 96,3%. Pemakaian alat uji Antigen TB cepat dibandingkan dengan mikroskopis BTA, kepekaan dan kekhasannya lebih rendah, tetapi di unit pelayanan kesehatan yang belum memiliki petugas

terlatih, penggunaan alat uji Antigen TB cepat sangat berkemampuan untuk membantu mendiagnosis TB paru karena lebih sederhana dan tidak memerlukan keterampilan khusus.

Ukuran pori membran yang tepat di perangkat perlu ditentukan, sehingga dahak dapat lancar mengalir dan perlu ditambahkan tatalangkah pemeriksaan untuk sampel yang kental. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengetahui penyebab reaksi silang, bila dahak diberi perlakuan dengan bahan yang tidak merusak epitop antigen dan penelitian dengan sampel spesimen tubuh lain (cairan selaput dada/pleura, asites, CSE, serum, dan air kemih).

Pada penelitian ini, pengocokan menjadi hal yang sangat penting, karena tidak tersedia reagen dalam perangkat yang mengandung mukolitik maupun bahan yang dapat mencairkannya bila pengocokannya kurang, maka dapat menyebabkan hasil negatif, karena mikroorganisme menjadi tidak ditemukan.

DAFTAR PUSTAKA

1. <http://www.tbindonesia.or.id>. (accessed Jun 15, 2010)
2. Dorman SE. New Diagnostic Test for Tuberculosis: Bench, Bedside, and Beyond. *Clinical Infectious Diseases*, 2010; 50: S173–S177.
3. Steingart KR, Ramsay A, Pai M. Optimizing sputum smear microscopy for the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2007; 5: 327–331.
4. Barman P, Gadre D. A study of phage based diagnostic technique for tuberculosis. *Indian J Tuberc*, 2007; 54: 36–40.
5. Cattamanchi A, Davis JL, Pai M, Huang L, Hopewell PC, Steingart KR. Does Bleach processing Increase the Accuracy of Sputum Smear Microscopy for Diagnosing Pulmonary Tuberculosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 2010; 48(7): 2433–2439.
6. Lange C & Tori M. Advances in the diagnosis of tuberculosis. *Respirology*, 2010; 15: 220–240.
7. Waard & Robledo. Tuberculosis 2007 from Basic Science to Patient Care, Tuberculosis, 2007; 1: 401–420. [online] Available at: <http://tuberculosisTbook.com/downloaded> on February 26.2011.
8. Kalra M, Khuller GK, Sheikh, Verna I. Evaluation of Mycobacterium tuberculosis specific RD antigens for delayed type hypersensitivity responses in guinea pig. *Indian Journal of Experimental Biology*, 2010; 48: 117–123.
9. Lalvani A, Nagvenkar P, Udwardia Z, Pathan AA, Wilkinson KA, Shastri JS, Ewer K, Hill AVS, Mehta A, Rodrigues C. Enumeration of T Cells Specific for RD1-Encoded Antigen Suggests a High Prevalence of Latent Mycobacterium tuberculosis Infection in Healthy Urban Indians. *The Journal of Infectious Diseases*, 2001; 183: 469–477.
10. Departemen Kesehatan RI. Pedoman Nasional Penanggulangan Tuberculosis, Edisi ke-3., Jakarta, 2002; 8: 9–36
11. Arias-Bouda LM, Nguyen LN, Ho LM, et al. Development of Antigen Detection Assay for Diagnosis of Tuberculosis Using Sputum Samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 2000; 38(6): 2278–2283.
12. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. *Mycobacteria*. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 12th Ed., Mosby Elsevier, 2007; 45: 478–489.
13. Mostowy S & Behr MA. The Origin and Evolution of Mycobacterium tuberculosis. *Clin Chest Med*, 2005; 26: 207–216.

14. Henry D. Clinical Diagnosis By Laboratory Methods. 15th Ed., Philadelphia, ZB Saunders Company, 1974; 24: 1239–1240.
15. Brosch R, Gordon SV, Pym A, Eiglmeier K, Garnier T, Cole ST. Comparative Genomic of The Mycobacteria. *Int J Med Microbiol*, 2000; 290: 143–152.
16. Rastogi N & Sola C. Molecular Evolution of the Mycobacterium tuberculosis Complex. *Tuberculosis 2007. Tuberculosis Text book.com*, first edition, 2007; 2: 53–66. [online] Available at: <http://tuberculosistextbook.com/> downloaded on March 9.2011
17. Parkash O, Singh BP, Pai M. Regions of Difference Encoded Antigen as Targets for Immunodiagnosis of Tuberculosis in Human. *Scandinavian Journal of Immunology*, 2009; 70: 345–357.
18. Mahairas GG, Sabo PJ, Hickey MJ, Singh DC and Stover CK. Molecular Analysis of Genetic Differences between Mycobacterium bovis BCG and Virulent M. bovis. *Journal of Bacteriology*, 1996; 3: 1274–1282.
19. Stevens CD. *Clinical Immunology & Serology: A Laboratory Perspective*. 3rd Ed., 2010; 3: 299–300.
20. Handojo I. *Pengantar Imunoasai Dasar*. Edisi 1, Surabaya, Airlangga University Press, 2003; 6: 181–187.