

Pengaruh Serum Lisis Terhadap Hasil Pemeriksaan Widal Dengan Reagens Tydal Diagnostic

Kalma*)

*) Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Makassar

ABSTRAK

Penelitian ini berlatar belakang adanya beberapa Laboratorium Rumah Sakit menggunakan sampel serum lisis dan tidak lisis pada pemeriksaan widal menggunakan reagens tydal. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh sampel lisis terhadap hasil pemeriksaan widal dengan reagens tydal diagnostic. Desain penelitian ini adalah penelitian eksperimen dimana penelitian dilakukan di laboratorium. Berdasarkan hasil statistik diperoleh t hitung (6,593) > t tabel (2,093) dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha= 0,05$). Hal ini berarti adanya pengaruh sampel lisis terhadap hasil pemeriksaan widal dengan reagens tydal diagnostic. Maka disarankan pada para klinisagar dalam pemeriksaan widal menggunakan sampel serum tidak lisis dalam mendiagnosa penyakit demam tipoid.

Kata Kunci: Serum lisis, Hasil Pemeriksaan Widal

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Demam tipoid merupakan suatu penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Salmonella typhi* (*S. typhi*) yang masih dijumpai secara luas di berbagai Negara berkembang yang terutama di daerah tropis dan subtropis. Penyakit ini juga merupakan masalah kesehatan masyarakat yang penting karena penyebarannya berkaitan erat dengan urbanisasi, sumber air, dan sanitasi yang buruk serta standar hygiene industry pengolahan makanan yang masih rendah.

Besarnya angka pasti kasus demam tipoid di dunia sangat sulit ditentukan karena penyakit ini di kenal mempunyai gejala dengan spektum klinis yang sangat luas. Data *World Health Organization* (WHO) tahun 2003 memperkirakan terdapat sekitar 17 juta kasus demam tipoid di seluruh dunia dengan insidensi 600.000 kasus kematian tiap tahun. Di negara berkembang kasus demam tipoid dilaporkan sebagai penyakit endemis, dimana 94% merupakan kasus rawat jalan sehingga insidensi yang sebenarnya adalah 14 – 24 kali lebih besar dari laporan rawat inap di rumah sakit. Di Indonesia kasus terbesar secara merata di seluruh provinsi dengan insidensi di daerah pedesaan 348 per 100.000 penduduk per tahun dan di daerah perkotaan 760 per

100.000 penduduk per tahun atau sekitar 600.000 dan 1,4 juta kasus per tahun. Umur penderita yang terkena di Indonesia dilaporkan antar 3 – 19 tahun pada 91% kasus.

Penyakit ini termasuk dalam undang – undang nomor 6 tahun 1962 tentang wabah. Kelompok penyakit menular ini merupakan penyakit-penyakit yang mudah menular dan dapat menyerang banyak orang, sehingga menimbulkan wabah (Sjaifoellah, 1996).

Beberapa faktor penyebab demam tipoid masih terus menjadi masalah kesehatan penting di negara berkembang meliputi pula keterlambatan penegakan diagnosis pasti. Penegakan diagnosis demam tipoid saat ini dilakukan secara klinis dan melalui pemeriksaan laboratorium. Diagnosis demam tipoid secara klinis sering kali tidak tepat karena tidak ditemukannya gejala klinis spesifik atau didapatkan gejala yang sama pada beberapa penyakit lain pada anak, terutama pada minggu pertama sakit. Hal ini menunjukkan perlunya pemeriksaan penunjang laboratorium untuk konfirmasi penegakan diagnosis demam tipoid.

Berbagai metode diagnostik masih terus dikembangkan untuk mencari yang cepat, mudah dilakukan dan murah biayanya dengan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi. Hal ini penting untuk membantu usaha penatalaksanaan penderita secara menyeluruh

yang juga meliputi penegakan diagnosis sedini mungkin dimana pemberian terapi yang sesuai secara dini akan dapat menurunkan ketidaknyamanan penderita, insidensi terjadinya komplikasi yang berat dan kematian serta memungkinkan usaha kontrol penyebaran penyakit melalui identifikasi karier.

Penegakan diagnosis demam tipoid didasarkan pada manifestasi klinis yang diperkuat oleh pemeriksa laboratorium penunjang. Sampai saat ini masih dilakukan berbagai penelitian yang menggunakan berbagai metode diagnostik untuk mendapatkan metode terbaik dalam usaha penatalaksanaan penderita demam tipoid secara menyeluruh.

Diagnosis demam tipoid ditegakkan berdasarkan anamnesis, gejala klinis, kelainan fisik dan tes laboratorium. Diagnosis definitif demam tipoid adalah isolasi *S. typhi* dari darah, sumsum tulang atau spesimen cairan tubuh lainnya. Tes laboratorium yang biasa digunakan yakni tes rutin (non spesifik), tes serologis dan tes kultur (Mansyur, 2007). Sejak beberapa tahun terakhir pemeriksaan tes widal menjadi rutin pada penderita demam tipoid. Uji serologi standar dan rutin untuk demam tipoid adalah uji widal. Uji ini telah digunakan sejak tahun 1986. Uji serologi widal sebagai alat penunjang diagnosis demam tipoid telah luas digunakan di seluruh dunia.

Untuk mendapatkan hasil pemeriksaan yang lebih baik atau untuk menghindari terjadinya positif palsu, maka diperhatikan cara pengambilan sampel sampai proses pemeriksaannya. Sampel yang baik adalah serum dari sampel darah yang tidak lisis. Di beberapa laboratorium kesehatan sering terjadi kesalahan pra analitik yang menyebabkan terjadinya hemolisis sampel darah tetapi sering diabaikan.

Berdasarkan hal tersebut diatas, penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang pengaruh serum lisis terhadap hasil pemeriksaan widal dengan reagens tydal diagnostic.

B. Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang diatas yang menjadi pokok permasalahan yakni; Apakah ada pengaruh serum lisis terhadap hasil pemeriksaan widal dengan reagens Tydal diagnostic.

C. Tujuan penelitian

1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh serum lisis terhadap hasil pemeriksaan widal dengan reagens Tydal diagnostic

2. Tujuan Khusus

Untuk menentukan pengaruh serum lisis terhadap hasil pemeriksaan widal dengan reagens tydal diagnostic.

D. Manfaat penelitian

1. Pengembangan Ilmu

Sebagai informasi ilmiah bahwa serum lisis dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan atau uji Widal.

2. Untuk masyarakat dalam hal ini tenaga analis kesehatan

Pemeriksaan atau uji Widal untuk diagnosis demam tipoid tidak dibolehkan menggunakan specimen serum lisis.

E. Hipotesa

1. Hipotesa nol (H_0)

Tidak ada pengaruh serum lisis terhadap hasil pemeriksaan widal dengan reagens tydal diagnostic

2. Hipotesa alternatif (H_a)

Ada pengaruh serum lisis terhadap hasil pemeriksaan widal dengan reagens tydal diagnostic

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasi laboratorium, melakukan uji diagnostik untuk menentukan sensitivitas dan spesifisitas teknik Mycotec TB dan teknik mikroskopis BTA dibandingkan dengan teknik kultur sebagai standar baku.

B. Pengambilan Spesimen

1. Pengumpulan Dahak Pasien Suspek Tuberkulosis Paru

Pemeriksaan mikroskopis BTA dilakukan dengan memeriksa 3 spesimen dahak sewaktu-pagi-sewaktu (SPS). Spesimen dahak dikumpulkan dalam 2 hari.

Pelaksanaan Pengumpulan Dahak SPS:

a. S (sewaktu), dahak dikumpulkan pada saat pasien suspek tuberkulosis paru datang berkunjung pertama kali. Pada saat pulang, pasien suspek tuberkulosis paru membawa sebuah pot dahak untuk mengumpulkan dahak hari kedua.

b. P (pagi), dahak dikumpulkan di rumah pada pagi hari kedua, segera setelah bangun tidur. Pot dibawa dan diserahkan sendiri kepada petugas di laboratorium.

c. **S (sewaktu)**, dahak dikumpulkan di laboratorium pada hari kedua, saat menyerahkan dahak pagi.

2. Pengambilan Serum Pasien Suspek Tuberkulosis Paru

Prosedur Pengambilan :

Turniket dipasang pada lengan atas pasien suspek tuberkulosis paru. Dengan menggunakan sarung tangan, tempat yang akan ditusuk didesinfeksi dengan alkohol 70%. Kulit di atas vena ditegangkan dengan jari tangan supaya vena tidak bergerak. Sputum dengan jarum nomor 23 (*needle size 23G x 1.1/4"*) steril dengan lubang menghadap ke atas, dimasukkan ke vena sampai ujung jarum masuk ke lumen vena. Pembendungan diregangkan dan perlahan-lahan pengisap sputum ditarik sampai diperoleh jumlah darah yang dikehendaki yaitu kurang lebih 5 ml. Turniket dilepas. Jarum dicabut pelan-pelan, kemudian bekas tusukan ditutup dengan kapas steril atau hendiplas. Jarum dilepas dari sputum dan darah dialirkan melalui dinding ke dalam tabung yang bersih, kering, steril dan telah diberi nomor urut identitas pasien. Darah dibiarkan membeku, sampai terbentuk serum. Serum dipisahkan dari bekuan darah, serum tersebut dimasukkan ke dalam tabung steril tutup berulir yang telah diberi nomor urut identitas pasien. Pemeriksaan dilakukan kurang dari 2 jam.

C. Definisi Operasional

1. Kultur *Mycobacterium tuberculosis* positif, bila pertumbuhan nampak 2–8 minggu, koloninya berwarna kuning-kelabu, permukaannya kering dan rapuh, dengan sudut-sudut yang tidak rata, mikroskopis BTA positif.
2. Kultur *Mycobacterium tuberculosis* negatif, bila inkubasi sampai 8 minggu tidak terlihat adanya koloni yang karakteristik untuk *M. tuberculosis*.
3. Antibodi spesifik terhadap *M. tuberculosis* positif, bila tampak 2 garis warna merah muda atau ungu tepat di garis area tes (T) dan di garis area kontrol (C).
4. Antibodi spesifik terhadap *M. tuberculosis* negatif, bila tampak 1 garis warna merah muda atau ungu tepat di garis area kontrol (C).
5. Basil tahan asam (BTA) positif, sekurang-kurangnya 2 dari 3 spesimen dahak sewaktu-pagi-sewaktu (SPS) dengan pewarnaan Ziehl Neelsen

hasilnya BTA positif.

6. Basil tahan asam negatif, pemeriksaan 3 spesimen dahak sewaktu-pagi-sewaktu (SPS) dengan pewarnaan Ziehl Neelsen hasilnya BTA negatif.

3. Pemeriksaan Mikroskopis BTA

1. Pembuatan dan Penyimpanan Sediaan Apusan Dahak :

Pot dahak dan kaca sediaan yang beridentitas sama diambil. Pot dahak dibuka dengan hati-hati untuk menghindari percikan dahak. Sediaan apusan dahak dibuat dengan ose, dengan urutan sebagai berikut : ose dipanaskan di atas nyala api sampai merah dan dibiarkan sampai dingin, untuk sterilisasi. Dahak diambil dari bagian yang kental dan kuning kehijauan menggunakan ose yang telah disterilkan. Dahak dioleskan secara merata dengan bentuk oval pada permukaan kaca sediaan dengan ukuran 2 x 3 cm. Ose yang telah dipakai, dimasukkan ke dalam wadah yang berisi pasir dan alkohol 70% setinggi 3–5 cm di atas pasir, kemudian digoyang-goyangkan untuk melepaskan partikel yang melekat pada ose. Setelah itu ose tersebut didekatkan pada api sampai kering, kemudian dipanaskan pada nyala api sampai merah, untuk mencegah penyebaran *M. tuberculosis*. Sediaan dikeringkan di udara terbuka, tidak terkena sinar matahari langsung atau di atas nyala api, sebelum sediaan difiksasi. Sediaan yang sudah kering diambil dengan menggunakan pinset pada sisi yang berlabel dengan apusan dahak menghadap ke atas. Sediaan tersebut dilewatkan di atas nyala api sebanyak 3 kali (memerlukan waktu 3-5 detik) untuk fiksasi. Setelah difiksasi, satu set pemeriksaan (10-20 sediaan) dikumpul dan disimpan dalam kotak sediaan untuk dilakukan pewarnaan metode Ziehl Neelsen secara bersamaan.

2. Pewarnaan Sediaan Apus Dahak Dengan Metode Ziehl Neelsen :

Sediaan dahak yang telah difiksasi diletakkan di atas rak pewarnaan dengan sediaan menghadap ke atas. Larutan karbol fuksin 0,3% dituang pada sediaan apusan dahak sampai seluruh sediaan tertutup larutan tsb. Sediaan dipanaskan dengan nyala api sampai keluar uap selama 3-5 menit. Zat warna tidak boleh mendidih atau kering. Sediaan didiamkan selama 5 menit, setelah pemanasan dihentikan. Sediaan dibilas dengan air mengalir pelan, kemudian dituangi asam

alkohol (HCl alkohol 3%) sampai warna merah fuksin hilang. Sediaan dibilas dengan air mengalir pelan. Sediaan dituangi dengan biru metilen 0,3% sampai seluruh permukaan sediaan tertutup. Sediaan didiamkan 10 sampai 20 detik, kemudian dibilas dengan air mengalir pelan. Sediaan dikeringkan di atas rak pengeringan di udara terbuka, tidak di bawah sinar matahari langsung.

3. Membaca dan Melaporkan Hasil Pemeriksaan :

Sediaan yang telah diwarnai dibaca atau diperiksa menggunakan mikroskop dengan lensa objektif 100 kali, diperiksa paling sedikit 100 lapang pandang. Pemeriksaan dimulai dari ujung kiri dan digeser terus secara horizontal ke kanan kemudian digeser ke bawah, selanjutnya kembali ke kiri, sampai 100 lapang pandang minimal yang diperiksa. Pembacaan hasil pemeriksaan sediaan dahak dilakukan dengan menggunakan skala *Internasional Union Against Tuberculosis and Lung Disease (IUATLD)* sebagai berikut :

- ①. Tidak ditemukan BTA dalam 100 lapang pandang, dilaporkan negatif
- ②. Ditemukan 1-9 BTA dalam 100 lapang pandang, dilaporkan jumlah BTA yang ditemukan
- ③. Ditemukan 10-99 BTA dalam 100 lapang pandang, dilaporkan 1+
- ④. Ditemukan 1-10 BTA dalam 1 lapang pandang, dilaporkan 2+
- ⑤. Ditemukan >10 BTA dalam 1 lapang pandang, dilaporkan 3+.

Catatan :

Bila ditemukan 1-3 BTA dalam 100 lapang pandang, pemeriksaan harus diulang dengan spesimen dahak yang baru. Bila hasilnya tetap 1-3 BTA, hasilnya dilaporkan negatif. Bila ditemukan 4-9 BTA, dilaporkan positif.

Dalam penelitian ini hasil penilaian *IUATLD* tersebut untuk satu spesimen, dikelompokkan dalam dua kriteria yaitu positif dan negatif.

Kriteria positif yaitu hasil pemeriksaan, 1+, 2+, 3+. Kriteria negatif yaitu hasil pemeriksaan yang bukan 1+, 2+, 3+.

Pada tabulasi data hasil pemeriksaan mikroskopis BTA dikelompokkan dalam BTA positif, jika sekurang-kurangnya 2 dari 3 spesimen dahak sewaktu-pagi-sewaktu hasilnya BTA positif dan negatif, apabila pemeriksaan 3 spesimen dahak sewaktu-pagi-

sewaktu hasilnya BTA negatif.

4. Kultur Mikobakteria

a. Homogenisasi dan Dekontaminasi

Dahak dan NaOH 4% sama banyak dicampur dan ditambahkan 2 tetes indikator *phenol red*. Campuran ini dikocok dengan mesin pengocok selama 10 menit, kemudian disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Sedimen ditambah 1 tetes HCl 2N, sedimen tersebut segera ditanam pada media.

b. Kultur Mikobakteria dengan Media Ogawa

Bahan pemeriksaan yang telah didekontaminasi, diambil 0,1 ml dengan pipet steril dan diteteskan pada permukaan media. Bahan pemeriksaan tersebut diratakan di seluruh permukaan media. Media yang telah ditanami diletakkan beberapa waktu di suhu kamar sebelum diinkubasi dgn tutup dikendorkan, kemudian diinkubasi pada 35 °C sampai 37 °C.

c. Pembacaan Kultur

Setelah diinkubasi selama 5 sampai 7 hari, media yang telah ditanami mulai dibaca untuk pertama kali dan diamati setiap minggu. Setelah 8 minggu tidak tampak ada pertumbuhan, laporkan negatif. Koloni yang tumbuh harus diperhatikan beberapa hal yaitu : waktu yang diperlukan untuk tumbuh, warna dari koloni, dan tipe koloni. Berdasarkan pengamatan koloni dapat diperkirakan mikobakteria yang tumbuh.

d. Uji Konfirmasi Mikobakteria

Untuk menentukan spesies mikobakteria secara tepat dilakukan pemeriksaan yang didasarkan pada sifat dan kemampuan mikobakteria. Bakteri yang tumbuh pada media isolasi terlebih dahulu diperhatikan waktu pertumbuhan, warna koloni, serta tipe koloninya, kemudian yang karakteristik mikobakteria dilakukan pemeriksaan mikroskopis. Spesies *M. tuberculosis* termasuk jenis yang lambat pertumbuhannya, tipe koloninya kasar, warna koloni kuning kelabu, dan permukaan kasar; pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan Ziehl Neelsen BTA positif.

5. Deteksi Antibodi Spesifik Terhadap *M. tuberculosis*

a. Prosedur Tes :

Sampul lempeng tes dibuka dan diletakkan pada tempat rata dan bersih. Dengan menggunakan *disposable specimen dropper*, teteskan 3 tetes serum pada tempat

lempeng tes (lubang spesimen). Hasil tes dibaca 5 – 20 menit setelah penetasan spesimen.

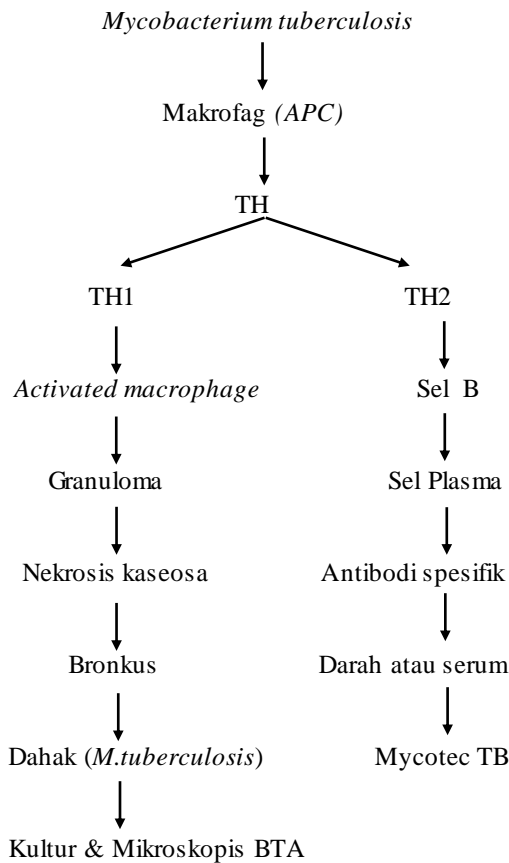
b. Interpretasi Hasil :

Positif : Tampak 2 garis warna merah muda atau ungu tepat di garis area Tes (T) dan di garis area Kontrol (C).

Negatif : Tampak 1 garis warna merah muda atau ungu tepat di garis area Kontrol (C).

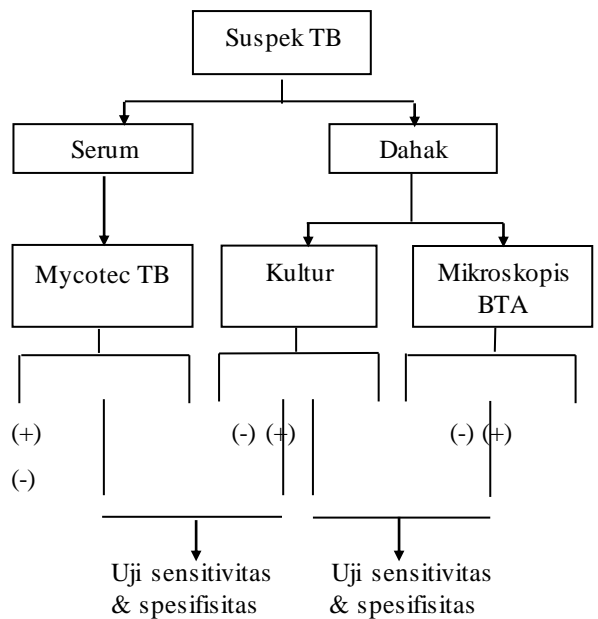
Invalid : Tidak tampak garis warna merah muda atau ungu tepat di garis Kontrol (C).

KERANGKA FIKIR :



Gambar 1. Skema kerangka pikir kultur, mikroskopis BTA dan Mycotec TB untuk diagnosis tuberkulosis.

KERANGKA OPERASIONAL



Gambar 2. Alur Penelitian uji kemampuan diagnosis teknik Mycotec TB dan Teknik Mikroskopis BTA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Hasil Deteksi Antibodi Spesifik Terhadap M. tuberculosis

Hasil deteksi antibodi spesifik terhadap *M. tuberculosis* pada spesimen serum suspek penderita tuberkulosis paru menggunakan Mycotec TB dinyatakan positif, dengan terbentuknya 2(dua) garis berwarna merah pada area pembacaan kartu pengujian, berbeda dengan hasil deteksi antibodi spesifik terhadap *M. tuberculosis* negatif, yang dinyatakan dengan hanya 1 (satu) garis berwarna merah yang terbentuk pada area pembacaan kartu pengujian yaitu garis kontrol.

Tabel 1. Hasil deteksi antibodi apesifik terhadap *M. tuberculosis* pada spesimen serum suspek penderita tuberkulosis paru menggunakan Mycotec TB.

Hasil deteksi antibodi spesifik terhadap <i>M. tuberculosis</i>					
Positif		Negatif		Jumlah	
N	%	N	%	n	%
30	60	20	40	50	100

Hasil deteksi antibodi spesifik terhadap *M. tuberculosis* pada 50 spesimen serum suspek penderita tuberkulosis paru ditemukan 30 (60%) spesimen serum antibodi spesifik terhadap *M. tuberculosis* positif; dan 20(40%) spesimen serum antibodi spesifik terhadap *M. tuberculosis* negatif

2. Hasil Pemeriksaan Mikroskopis BTA

Hasil pemeriksaan mikroskopis BTA dinyatakan positif, bila sekurang-kurangnya 2 dari 3 spesimen dahak sewaktu-pagi-sewaktu (SPS) menggunakan pewarnaan Ziehl Neelsen positif. Hasil pemeriksaan mikroskopis BTA dinyatakan negatif, apabila pemeriksaan 3 spesimen dahak SPS menggunakan pewarnaan Ziehl Neelsen hasilnya BTA negatif (Departemen Kesehatan RI, 2006)

Tabel 2 Hasil pemeriksaan mikroskopis BTA pada spesimen dahak suspek penderita tuberkulosis paru menggunakan pewarnaan Ziehl Neelsen.

Hasil pemeriksaan mikroskopis BTA					
Positif		Negatif		Jumlah	
N	%	n	%	n	%
26	52	24	48	50	100

Hasil pemeriksaan mikroskopis BTA pada 50 spesimen dahak suspek penderita tuberkulosis paru ditemukan 26 (52%) spesimen dahak BTA positif; dan 24 (48%) spesimen dahak BTA negatif.

3. Hasil Pemeriksaan Kultur *M. Tuberculosis*

Hasil pemeriksaan *M. tuberculosis* pada kultur spesimen dahak suspek penderita tuberkulosis paru menggunakan media Ogawa dinyatakan positif atau negatif didasarkan pada pengamatan kecepatan pertumbuhan, warna dan tipe koloni yang karakteristik.

Pemeriksaan *M. tuberculosis* pada kultur spesimen dahak suspek penderita tuberkulosis paru menggunakan media Ogawa dinyatakan positif, bila pertumbuhan nampak dalam waktu 2 – 8 minggu, koloni berwarna kuning kelabu, permukaan koloni kering dan rapuh dengan sudut-sudut yang tidak rata.

Pemeriksaan *M. tuberculosis* pada kultur spesimen dahak suspek penderita tuberkulosis paru menggunakan media Ogawa dinyatakan negatif, bila inkubasi sampai 8 minggu tidak

terlihat adanya koloni karakteristik *M. tuberculosis*.

Tabel 3 Hasil pemeriksaan *M. tuberculosis* pada kultur spesimen dahak suspek penderita tuberkulosis paru menggunakan media Ogawa.

Hasil pemeriksaan kultur <i>M. Tuberculosis</i>					
Positif		Negatif		Jumlah	
N	%	n	%	n	%
39	78	11	22	50	100

Hasil pemeriksaan *M. tuberculosis* pada kultur 50 spesimen dahak suspek penderita tuberkulosis paru yang diperiksa, ditemukan 39 (78%) spesimen dahak *M.tuberculosis* positif; dan 11(22%) spesimen dahak *M. tuberculosis* negatif.

4. Analisis Hasil Penelitian

Uji kemampuan diagnosis dilakukan untuk mengukur sensitivitas dan spesifisitas Mycotec Tb dan teknik Mikroskopis BTA, sebagai teknik yang diuji dibandingkan dengan standar baku, yaitu teknik kultur menggunakan tabel 2x2 (Sastroasmoro dan Ismael, 1995).

Tabel 2x2 Hasil MycotecTB dan kultur sebagai standar baku.

Teknik diagnosis tuberkulosis	Teknik standar baku		
	Teknik kultur		
	+	-	
Teknik yg diuji Mycotec TB	+	28	2
	-	11	9

positif benar = 28 positif palsu = 2
negatif benar = 9 negatif palsu = 11

PB = Positif benar: hasil positif dari teknik yg diuji benar sama dengan hasil positif dari teknik standar baku

PP = Positif palsu: hasil positif dari teknik yg diuji tidak sama dengan hasil teknik standar baku yang ternyata negatif

NB = Negatif benar: hasil negatif dari teknik yang diuji benar sama dengan hasil negatif dari teknik standar baku

NP = Negatif palsu: hasil negatif dari teknik yang diuji tidak sama dengan hasil teknik standar baku yang ternyata positif.

Sensitivitas dan spesifisitas Mycotec TB:

$$\text{Sensitivitas} = \frac{25}{28 + 11} \times 100 \% = 71,79\%$$

$$\text{Spesifisitas} = \frac{9}{9 + 2} \times 100 \% = 81,82\%$$

Tabel 2x2 Hasil Teknik Mikroskopis BTA dan kultur sebagai standar baku.

Teknik diagnosis tuberkulosis	Teknik standar baku		
	Teknik kultur		
	+	-	
Teknik yg diuji Mikroskopis BTA	+	25	1
	-	14	10

positif benar = 25 positif palsu = 1
 negatif benar = 10 negatif palsu = 14
 Sensitivitas dan spesifisitas Teknik Mikroskopis BTA :

$$\text{Sensitivitas} = \frac{25}{25 + 14} \times 100 \% = 64,10\%$$

$$\text{Spesifisitas} = \frac{10}{10 + 1} \times 100 \% = 90,91\%$$

Tabel 4. Sensitivitas, Spesifisitas Teknik Imunokromatografi Mycotec TB dan Teknik Mikroskopis BTA

Teknik diagnosis tuberkulosis	Sensitivitas (%)	Spesifisitas (%)
Teknik Imunokromatografi My-cotec TB	71,79	81,82
Teknik Mikroskopis BTA	64,10	90,91

B. PEMBAHASAN

1. Karakteristik Sampel Penelitian

Pada penelitian ini dipilih suspek penderita tuberkulosis paru yang betuk terus menerus dan berdahak selama 3 minggu atau lebih dan pernah bercampur darah, disertai gejala sesak napas, rasa nyeri dada, badan lemah, nafsu makan menurun, rasa kurang enak badan, berkeringat malam walaupun tanpa kegiatan dan belum mendapat pengobatan obat anti tuberkulosis (OAT). Dipilihnya suspek penderita tuberkulosis paru dengan kriteria tersebut dengan maksud supaya kultur *M. tuberculosis* positif pada

spesimen dahak dari sampel penelitian persentasenya lebih tinggi.

Penelitian dilakukan pada suspek penderita tuberkulosis paru dengan usia 15-50 tahun, untuk menghindari pengaruh perubahan supresi respons imun pada usia di atas 50 tahun (Grassi, *et al.*, 1999), dan menghindari respons imun yang masih lemah pada bayi dan anak sebelum pubertas (Crofton, *et al.*, 1992), serta untuk mendapatkan penderita tuberkulosis paru lebih banyak, karena tuberkulosis paru banyak menyerang usia 15 – 50 tahun (Departemen Kesehatan RI., 2006).

Suspek penderita tuberkulosis paru yang terpilih pada penelitian ini adalah suspek tuberkulosis paru dengan gejala klinis lepra negatif yakni tidak ditemukan makula anestesi dikulit atau lobulus telinga. Hal tersebut untuk menghindari kemungkinan terjadi reaksi silang dengan antibodi *M. leprae* yang dapat menyebabkan hasil positif palsu.

2. Kultur Konvensional Metode Standar

Pada 50 spesimen dahak suspek penderita tuberkulosis paru yang diperiksa, ditemukan 78% kultur *M. tuberculosis* positif, pada hasil kultur menggunakan media Ogawa.

Pada penelitian ini dilakukan uji validitas teknik Mycotec TB dan teknik mikroskopis BTA dibandingkan dengan teknik standar baku yaitu teknik kultur konvensional metode standar menggunakan media Ogawa.

Spesimen dahak suspek penderita tuberkulosis paru yang memenuhi kriteria sampel penelitian diambil 3 kali: sewaktu-pagi-sewaktu, untuk menyakinkan diagnosis yang tepat dari dahak yang diperiksa, sesuai dengan kriteria Departemen Kesehatan RI.

Teknik kultur sebagai standar baku pada penelitian ini, berdasarkan referensi memiliki sensitivitas laboratorium yang tinggi, dapat mendeteksi paling sedikit 10 mikobakteria permililiter spesimen dahak (Parish and Stoker, 1998). Hal tersebut dapat tercapai jika kondisi kultur sesuai standar, jika tidak sesuai standar akan mempengaruhi sensitivitas dan spesifisitas teknik kultur.

Kondisi kultur meliputi kondisi media kultur dan kondisi inkubasi. Kondisi media kultur harus standar yaitu cukup nutrisi dan tidak mengandung bahan yang dapat menghambat pertumbuhan *M. tuberculosis*.

Kondisi inkubasi yang dapat menjamin *M. tuberculosis* tumbuh optimal antara lain, suhu inkubasi antara 35 °C – 37 °C, CO₂ atmosfer antara 5-10%, dan terhindar dari

kontaminasi jamur atau mikroba lain (Parish and Stoker, 1998).

Pada kultur konvensional metode standar selalu diperhatikan kontrol kualitas prosedur, seperti selalu disertakan kontrol positif, yakni strain *M. tuberculosis* yang telah teridentifikasi; kontrol negatif, yakni NaCl 0,9% steril, dilakukan uji sterilitas media dan kualitas media.

Metode kultur pada diagnosis tuberkulosis paru masih merupakan metode standar baku yang telah diuji hasilnya mendekati absolut dimana sensitivitas dan spesifisitasnya sesuai dengan manifestasi klinisnya (Mahon and Manuselis, 1995), namun ada kendala lamanya memperoleh hasil, biaya relatif mahal, diperlukan tenaga pemeriksa yang terampil, serta fasilitas laboratorium yang memenuhi standar.

3. Basil Tahan Asam

Hasil pemeriksaan mikroskopis BTA pada penelitian ini yakni sensitivitas 64,10% dan spesifisitas 90,91%.

Pada penelitian ini ditemukan spesimen dahak dengan hasil kultur *M. tuberculosis* positif, ternyata pemeriksaan mikroskopis BTA negatif. Hal ini dapat disebabkan karena rendahnya sensitivitas laboratorium dari pemeriksaan mikroskopis BTA yang tidak mampu mendeteksi adanya BTA dengan jumlah kurang dari 10^4 BTA / ml dahak (Parish and Stoker, 1998). Rendahnya sensitivitas laboratorium dari teknik mikroskopis BTA ini, dapat menyebabkan hasil negatif palsu pada pemeriksaan mikroskopis BTA. Pada penelitian ini masih dijumpai 28% hasil negatif palsu pada teknik pemeriksaan mikroskopis BTA. Dengan demikian, maka bila pada pemeriksaan mikroskopis tidak ditemukan BTA bukan berarti tidak ada *M. tuberculosis* dalam spesimen dahak yang diperiksa.

Pada penelitian ini ditemui adanya fenomena pemeriksaan mikroskopis BTA positif tetapi pemeriksaan kultur negatif. Fenomena ini dapat disebabkan karena *M. tuberculosis* mati, kontaminasi apusan dahak atau adanya organisme tahan asam lain dalam dahak seperti *Nocardia*, *Corynebacterium* atau spora jamur (Richard dan Bastian, 2000). Adanya organisme tahan asam lain dalam spesimen dahak, dapat menyebabkan hasil positif palsu pada pemeriksaan mikroskopis BTA. Teknik pemeriksaan mikroskopis BTA pada penelitian ini masih dijumpai hasil positif

palsu 2 %. Dengan demikian, maka apabila pada pemeriksaan mikroskopis ditemukan BTA, belum pasti terdapat *M. tuberculosis* dalam spesimen dahak yang diperiksa.

M. tuberculosis sebagai penyebab tuberkulosis, berbentuk batang dan mempunyai ciri atau sifat yang khas, yaitu kemampuannya mengikat zat warna karbol-fuksin secara kuat sehingga tidak luntur atau tidak hilang meskipun dicuci dengan pelarut zat warna yang kuat seperti asam dan alkohol, karena itu disebut basil tahan asam (BTA). Kemampuan dari *M. tuberculosis* yang unik ini bermanfaat untuk diagnosis tuberkulosis secara bakteriologis, khususnya teknik mikroskopis dengan pewarnaan untuk bakteri tahan asam seperti Ziehl Neelsen (ZN).

4. Mycotec TB

Mycotec TB mudah dikerjakan, cepat memberikan hasil, relatif murah, dan pada penelitian ini ternyata sensitivitasnya 71,79%, sedangkan spesifisitasnya 81,82%. Untuk penegakan diagnosis diperlukan teknik pemeriksaan yang lebih sensitif, bila memungkinkan sensitivitas mendekati 100%, agar tidak mendapatkan hasil negatif palsu yang dapat mengakibatkan penyakit penderita tidak terdiagnosis dengan tepat.

Mycotec TB dengan sensitivitas dan spesifisitas sebagaimana tertera di atas, sebaiknya digunakan untuk tujuan uji skrining pada pasien suspek tuberkulosis. Selain itu dapat digunakan untuk kasus suspek tuberkulosis pada keadaan sulit mendapatkan dahak seperti halnya pada anak-anak atau penderita sakit berat.

Hasil yang diperoleh dengan Mycotec TB sebaiknya digabungkan dengan data anamnesis, gejala klinis, dan hasil pemeriksaan penunjang lainnya untuk dapat menegakkan diagnosis tuberkulosis.

Sensitivitas teknik imunokromatografi pada umumnya, termasuk Mycotec TB dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain bahan dan reagen yang digunakan, kondisi malnutrisi dan rendahnya imunitas penderita tuberkulosis, terutama yang berat badan sudah turun terlalu banyak karena nafsu makan tidak ada.

Hasil negatif palsu deteksi antibodi spesifik terhadap *M. tuberculosis* menggunakan Mycotec TB pada penelitian ini masih dijumpai 11 (22%). Hasil negatif palsu ini dapat disebabkan karena keterbatasan Mycotec TB, respons imun suspek

tuberkulosis paru yang rendah, atau antibodi spesifik terhadap *M. tuberculosis* belum terbentuk.

Jika pada seorang suspek penderita tuberkulosis paru hasil pemeriksaan kultur dahak negatif, tetapi hasil deteksi antibodi spesifik terhadap *M. tuberculosis* positif, hal tersebut dapat disebabkan antara lain karena *M. tuberculosis* dalam dahak mati atau tidak tumbuh pada media, sedangkan titer antibodi dalam serum tinggi. Pada penelitian ini, hal tersebut di atas ditemukan 4%.

Perbandingan hasil teknik Mycotec TB dengan teknik mikroskopis BTA pada penelitian ini : pemeriksaan tunggal Mycotec TB positif 60%; pemeriksaan tunggal mikroskopis BTA positif 52%. Sensitivitas Mycotec TB pada penelitian ditemukan 71,79%, sedangkan mikroskopis BTA sensitivitasnya 64,10%. Spesifisitas Mycotec TB pada penelitian ini ditemukan 81,82%, sedangkan mikroskopis BTA spesifisitasnya 90,91%.

Kelebihan teknik Mycotec TB antara lain: mudah dikerjakan; hasil sepat diperoleh yakni 5 – 20 menit; mudah dibaca, tidak membutuhkan alat untuk membaca hasil; dapat digunakan untuk diagnosis tuberkulosis paru, maupun tuberkulosis ekstrapulmonal; setiap tes dikemas secara individual, pengerjaan dapat setiap saat.

Kelemahan teknik Mycotec TB antara lain: pengambilan spesimen darah invasif atau menyakitkan pasien; darah vena tidak selalu mudah diperoleh, misalnya pada pasien anak-anak atau pada pasien yang pembuluh darah venanya tidak nampak, perlu tenaga terlatih dan terampil mengambil darah vena, jika menggunakan spesimen serum.

Kelebihan teknik mikroskopis BTA antara lain: pengambilan spesimen dahak tidak invasif atau tidak menyakitkan pasien, biaya pemeriksaan relatif murah, sensitivitas dan spesifisitas relatif tidak berbeda dengan serodiagnostik yang harganya relatif lebih mahal.

Kelemahan teknik mikroskopis BTA: tidak selalu mudah memperoleh spesimen dahak, misalnya pada pasien anak-anak atau penderita yang sakit berat; tidak dapat digunakan untuk diagnosis tuberkulosis ekstrapulmonal; memerlukan tenaga mikroskopik yang terlatih dan terampil.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Atas dasar hasil dan pembahasan penelitian ini dapat ditarik suatu kesimpulan sebagai berikut:

1. Sensitivitas teknik imunokromatografi Mycotec TB 71,79%
2. Spesifisitas teknik imunokromatografi Mycotec TB 81,82%
3. Sensitivitas teknik mikroskopis BTA 64,10%
4. Spesifisitas teknik mikroskopis BTA 90,91%

B. Saran

1. Teknik imunokromatografi Mycotec TB dan teknik mikroskopis BTA dapat digunakan sebagai penunjang diagnosis tuberkulosis.
2. Faktor yang berpengaruh sehingga sensitivitas Mycotec TB dan teknik Mikroskopis BTA relatif rendah, perlu diteliti guna pengembangan perangkat diagnostik tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Akiko F, 1998. TB Microscopy. International Cooperation Departement The Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association.
- Baratawidjaja KG, 2009. Imunologi Dasar. Edisi ke-8, Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Crofton J. Horne N, Miller F, 1992. Clinical Tuberculosis (Alih Bahasa: Moeljono S. Trastotenojo, Dwi WastoroDadiyanto, Rudy Susanto). Jakarta: Widya Medika.
- Departemen Kesehatan Republik Indone-sia, 2006. Pedoman Nasional Penanggulangan Tuberkulo-sis. Jakarta: Departemen Ke-sehatan RI.
- Gounder C, Mello FCQ, Conde MB, Bishai WR, Kritski AL, Chaisson RE, Dorman SE, 2002. Field

- Evaluation of Rapid Immunochromatographic Test for Tuberculosis. *Journal of Clinical Microbiology*. June 2002.
- Handojo I, 2001. Immunochromatographic Assay. Surabaya: Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Mahon CR and Manuselis G, Jr., 1995. Text Book of Diagnostic Microbiology. W.B. Saunders Company. Philadelphia, London, Montreal, Sydney, Tokyo.
- Parish T and Stoker NG, 1998. Mycobacteria Protocols. Totowa, New Jersey: Human Press.PT. Indec Diagnostics. Mycotec TB^{XP} (Recombinant). Jakarta.
- Richard L dan Bastian I, 2000. Buku Pegangan untuk Kursus Singkat Deteksi dan Pementauan Tuberkulosis. Jakarta: Direktorat Laboratorium Kesehatan Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial.
- Sastroasmoro S dan Ismael S, 1995. Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinik. Jakarta: Bina Aksara.