



*Original Article*

## Uji Diagnosis Basil Tahan Asam pada Sputum dan *Immunochromatography Tuberculosis* Menggunakan Sampel Serum dan Darah Kapiler

Meita Hendrianingtyas, Lisyani B Suromo

Bagian/SMF Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RSUP Dr. Kariadi Semarang

### Abstrak

**Latar belakang:** Pemeriksaan basil tahan asam (BTA) sputum masih dipakai sebagai salah satu pemeriksaan baku emas dalam diagnosis tuberculosis (TB). *Immunochromatography tuberculosis* (ICT-TB) untuk mendeteksi anti-TB merupakan teknik lain yang cepat, sederhana serta mudah pengoperasiannya dengan menggunakan sampel serum/plasma/darah lengkap. Penggunaan serum/plasma membutuhkan peralatan tertentu dan sering timbul kesulitan dalam sampling darah vena yang lebih invasif, sedangkan darah lengkap hanya dengan tusukan jari/kapiler. Tujuan penelitian ini adalah menentukan nilai diagnostik pemeriksaan ICT-TB serum dan darah kapiler terhadap pemeriksaan sputum BTA

**Metode:** Uji diagnostik pada 30 suspek tuberculosis di Balai Kesehatan Paru Masyarakat di kota Semarang dengan mengambil sampel sputum untuk pemeriksaan BTA, serum dan kapiler untuk pemeriksaan ICT-TB. Dibandingkan nilai sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif serta negatif ICT-TB serum dan darah kapiler terhadap BTA sputum.

**Hasil:** Hasil positif didapatkan pada 17 (56,7%) dan negatif pada 13 (43,3%) pemeriksaan sputum. Nilai sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif dan negatif ICT-TB serum terhadap sputum BTA adalah 58,9%; 92%, 90,1%, 63%. Nilai sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif dan negatif ICT-TB darah kapiler terhadap sputum BTA adalah 41,1%; 100%, 100%, 56%.

**Simpulan:** Sensitivitas dan nilai ramal negatif ICT-TB serum lebih tinggi dibandingkan ICT-TB darah kapiler terhadap sputum BTA. Spesifisitas dan nilai ramal positif ICT-TB darah kapiler lebih tinggi dibandingkan ICT-TB serum terhadap sputum.

**Kata kunci:** BTA sputum, antibodi anti-TB serum dan darah kapiler

### Diagnosis test of acid fast bacilli stained smears from sputum and *immunochromatography tuberculosis* by using serum and capillary blood

### Abstract

**Background:** Acid fast bacilli (AFB) stained smears from sputum is one of the gold standard examinations for diagnosis of tuberculosis (TB). *Immunochromatography Tuberculosis* (ICT-TB) is another rapid, simple and easy technic to detect anti-TB antibody by using serum, plasma or whole blood as it specimens. The technique by using serum/plasma needs many equipment and more invasive, while the examination using whole blood only uses finger prick technique. The aim of this study was to compare diagnostic value of ICT-TB test by using serum and capillary blood as specimen to AFB stained smears from sputum as a gold standard.

**Methods:** Specimens collected from 30 suspect TB patients at *Balai Kesehatan Paru Masyarakat* Semarang city. Sputum for an AFB examination, serum specimen (by venipuncture) and capillary specimen (by finger prick) for an ICT-TB test were detected. The sensitivity, specificity, positive and negative predictive value (PPV/NPV) of ICT-TB test with serum and capillary blood to AFB stained smears from sputum were compared.

**Results:** Seventeenth specimens (56.7%) were positive and 13 specimens (43.3%) were negative from AFB sputum examination. The sensitivity, specificity, positive and negative predictive value (PPV/NPV) ICT-TB serum specimen were 58.9%, 92%, 90.1%, 63% respectively. The sensitivity, specificity, positive and negative predictive value ICT-TB on capillary blood were 41.1%; 100%, 100%, 56% respectively.

**Conclusion:** The sensitivity and NPV serum ICT-TB are higher than capillary blood ICT-TB, and the other hand specificity and PPV ICT-TB capillary blood are higher than ICT-TB serum to AFB stained smear.

**Keywords:** AFB stained smear, anti-TB antibody serum and capillary blood

## PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Sub Direktorat TB Departemen Kesehatan RI dan WHO menyatakan bahwa terdapat sekitar 9,2 juta kasus baru TB dan kira-kira 1,7 juta kematian karena TB pada tahun 2006. Negara India, Cina dan Indonesia berkontribusi lebih dari 50% dari seluruh kasus TB yang terjadi di 22 negara dimana Indonesia menempati peringkat ke-3 setelah India dan Cina. Sebanyak 75% yang terinfeksi TB adalah usia produktif, yakni usia 15–50 tahun.<sup>1,2</sup>

Diagnosis TB paru rutin di laboratorium, termasuk rumah sakit dan puskesmas dilakukan dengan teknik mikroskopis basil tahan asam (BTA) pada sputum pasien, dan terkadang dilakukan kultur untuk konfirmasi diagnosis laboratorium. Teknik kultur memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi, tetapi membutuhkan waktu yang cukup lama serta membutuhkan fasilitas yang terjamin keamanannya. Pemeriksaan sputum BTA masih merupakan standar emas yang dilakukan sampai saat ini. Pemeriksaan sputum untuk penegakan diagnosis dilakukan dengan mengumpulkan 3 sampel dahak yang dikumpulkan dalam dua hari kunjungan yang berurutan berupa sewaktu-pagi-sewaktu (SPS). Tidak semua penderita TB terutama TB paru dapat mengeluarkan basil TB ke dalam sputumnya. Pemeriksaan ini tidak dapat membedakan kuman penyebab TB dengan spesies kuman *Mycobacterium* yang lain. Hasil positif dapat diperoleh jika didapatkan basil sebanyak 104/ml sputum atau minimal 5000/ml sputum.<sup>1,3</sup> Teknik mikroskopis BTA dapat dilakukan dalam waktu relatif cepat, tetapi terkadang bermasalah dalam pengumpulan sputum dari penderita.

Teknik baru dalam menegakkan diagnosis TB adalah dengan menggunakan *Immunochromatography Tuberculosis* (ICT-TB) yang merupakan teknik yang cepat dan sederhana serta mudah dalam pengoperasiannya. Prinsip kerja ICT-TB ini adalah reaksi antigen pada alat yang akan berikatan dengan anti-TB dari sampel penderita yang dikonjugasikan ke partikel halus berwarna, yaitu *colloidal gold* (merah) sebagai pelabel. Partikel tersebut sangat halus (1–20 nm) sehingga daya migrasinya kuat dan dalam waktu yang sangat singkat dapat mencapai garis atau antigen pengikat dan menimbulkan sinyal warna yang spesifik.<sup>4</sup> Kompleks imun yang terbentuk kemudian akan mengalir melalui membran (nitroselulose) yang dilapisi oleh penangkap terhadap antigen mikroba yang sama. Sampel yang digunakan untuk pemeriksaan ICT-TB berupa serum, plasma ataupun darah lengkap.<sup>5,6</sup>

Pemeriksaan dengan sampel serum atau plasma membutuhkan peralatan tertentu seperti jarum suntik untuk pengambilan sampel darah vena, tabung reaksi untuk menampung sampel darah vena serta alat

sentrifugasi untuk serum dari darah lengkap tersebut. Hal ini akan sulit untuk dilakukan di luar laboratorium karena peralatan yang dibutuhkan, juga besarnya biaya yang harus ditanggung oleh pasien karena penggunaan peralatan tersebut. Pengambilan darah vena juga dirasa lebih invasif dibandingkan dengan pengambilan darah kapiler yang hanya dengan tusukan jari. Pemeriksaan ICT-TB dengan menggunakan darah kapiler akan lebih praktis, lebih mudah, lebih murah dan dapat dilakukan di luar laboratorium oleh petugas kesehatan pada seseorang yang dicurigai sebagai penderita TB. Penelitian sebelumnya telah menyebutkan perbandingan antara darah lengkap (vena), serum dan plasma,<sup>7</sup> akan tetapi sejauh yang diketahui peneliti belum ada penelitian tentang pemeriksaan ICT-TB dengan menggunakan darah kapiler. Hal ini menjadi pertimbangan bagi peneliti untuk mendalami lebih lanjut mengenai pemeriksaan ICT-TB dengan sampel darah kapiler.

Penjelasan di atas menjadi pertimbangan dilakukannya penelitian untuk mengetahui nilai diagnostik pemeriksaan ICT-TB darah kapiler terhadap pemeriksaan sputum BTA dibandingkan dengan pemeriksaan ICT-TB serum terhadap pemeriksaan sputum BTA sebagai baku emas.

## METODE

Penelitian dilaksanakan pada Balai Kesehatan Paru Masyarakat (BKPM) Semarang, pada bulan September 2009. Subjek penelitian sebanyak 30 orang merupakan pasien suspek TB yang memeriksakan diri ke BKPM Semarang, pemeriksaan sputum, ICT-TB serum dan ICT-TB darah kapiler dilakukan di laboratorium BPKM Semarang. Sampel sputum yang diteliti sebanyak 30 sampel, begitu juga dengan sampel serum dan sampel darah kapiler yang diperoleh dari subjek yang sama.

Disain penelitian yang dipakai pada penelitian ini adalah uji diagnostik, yaitu pemeriksaan ICT-TB serum dengan sputum BTA dan ICT-TB darah kapiler dengan sputum BTA.

### Pemeriksaan sputum BTA

Pembuatan apusan sputum pada kaca objek yang dikeringkan pada udara terbuka, kemudian difiksasi dengan pemanasan. Larutan Carbol Fuchsin 0,3% diteteskan pada apusan sputum sampai menutupi seluruh permukaan sediaan sputum dan dipanaskan dengan nyala api spiritus sampai keluar uap selama 3–5 menit. Zat warna tidak boleh mendidih atau kering, jika mendidih akan terbentuk kristal/partikel kecil yang dapat terlihat seperti kuman TBC. Sediaan didiamkan selama 5 menit selanjutnya dibilas dengan air mengalir sampai zat warna yang bebas terbuang. Asam alkohol diteteskan pada sediaan sampai warna merah fuchsin menghilang, selanjutnya diteteskan larutan *methylen blue* 0,3% pada sediaan sampai menutupi seluruh permukaan, didiamkan selama 10–20 detik kemudian

dikeringkan.<sup>1</sup> Pembacaan hasil pemeriksaan sediaan apusan sputum dinyatakan dalam negatif apabila tidak ditemukan BTA dan dinyatakan dalam positif jika ditemukan BTA, tanpa melihat derajat positifnya.

**Pemeriksaan ICT-TB pada Serum dan Darah Kapiler**

Prinsip kerja ICT-TB ini seperti yang telah disebutkan di atas adalah reaksi langsung (*double antibody sandwich*) dimana antibodi anti-TB dengan antigen yang telah dilabel *colloidal gold* pada alat.<sup>5,6</sup> Antigen yang telah dilabel dan spesifik bagi antibodi anti-TB terdapat pada bagian bawah kertas nitroselulosa (disebut bantalan konjugat/*conjugate pad*). Saat sampel ditambahkan pada lubang sampel, maka sampel akan melewati dan melarutkan konjugat, jika dalam sampel terdapat antibodi yang akan diperiksa, maka antibodi ini akan diikat oleh antigen spesifik yang telah dilabel tersebut.<sup>6,8,9</sup>

Kompleks imun ini selanjutnya akan bergerak mengikuti aliran sampel sepanjang strip membran hingga mencapai *line test/capture line* dimana kompleks imun tersebut akan diimobilisasi dan membentuk warna sesuai dengan derajat sesuai dengan kadar antibodi anti-TB pada sampel, kompleks imun sisanya akan mengalir menuju ke garis *control/control line* yang akan berikatan pula dengan antibodi yang telah diimobilisasi.<sup>6,8</sup>

**1. Pemeriksaan ICT-TB serum**

Sampel darah vena diambil dengan *sputit* 3cc, minimal 2,5cc darah lengkap vena, dimasukkan dalam tabung reaksi, didiamkan selama 20-30 menit hingga terbentuk bekuan kemudian dilakukan sentrifugasi 3000 rpm selama 10 menit. Serum sebanyak 100 µl diambil dengan pipet yang tersedia dalam kemasan dan masukkan *sample application well*/lubang untuk sampel yang terdapat pada *rapid test (Rapid Test TB Cassette-FOCUS)*. Hasil dibaca dalam waktu 15 menit. Hasil dinyatakan negatif jika hanya satu garis merah muda/ungu yang ada dalam garis kontrol (C), dan dinyatakan positif jika terdapat dua garis merah muda/ ungu yang ada dalam garis kontrol (*Control Line/C*) dan garis pemeriksaan (*Test Line/T*). Hasil dinyatakan invalid jika tidak didapatkan garis pada *Control Line*.<sup>9</sup>

**2. Pemeriksaan ICT-TB darah kapiler**

Jari yang akan ditusuk dibersihkan dengan kapas alkohol, selanjutnya tusukkan lancet hingga darah keluar, buang tetesan pertama. Masukkan 2-3 tetesan berikutnya ke dalam *sample application well*/lubang untuk sampel. Hasil dibaca dalam waktu 15-30 menit. Interpretasi hasil sama dengan interpretasi ICT-TB serum.

Data diolah menggunakan *SPSS 15,0 for Windows*, analisis deskriptif fekuensi untuk mengetahui prosentase (umur, jenis kelamin, hasil BTA positif dan negatif, hasil ICT-TB serum dan kapiler positif dan negatif). Perhitungan dilakukan untuk mengetahui sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif dan nilai ramal negatif ICT-TB serum dan darah kapiler terhadap sputum BTA.

**HASIL**

Subjek berumur antara 18 sampai 64 tahun, dengan rerata umur 41,3 tahun. Subjek pria lebih banyak daripada subjek wanita. Pemeriksaan sputum BTA pada 30 suspek TB diperoleh hasil positif lebih banyak daripada hasil negatif. Pemeriksaan ICT-TB serum dan darah kapiler pada pasien yang sama didapatkan hasil positif lebih rendah. Frekuensi data dapat dilihat pada Tabel 1.

**TABEL 1**  
**Data dasar**

Parameter	n (%)
Subjek : Pria	17(56,7%)
Wanita	13(43,3%)
Usia (Rerata (SD))	41,3 (12,8)
BTA : Positif (+)	17(56,7%)
Negatif (-)	13(43,3%)
ICT-TB Serum	
Positif (+)	11(36,7%)
Negatif (-)	19(63,3%)
ICT-TB Darah Kapiler	
Positif (+)	7(23,3%)
Negatif (-)	23(76,7%)

**TABEL 2**  
**Perbandingan antara hasil pemeriksaan ICT-TB serum terhadap sputum BTA**

		BTA sputum		Total
		+	-	
ICT-TB serum	+	10	1	11
	-	7	12	19
ICT-TB serum	Total	17	13	30

**TABEL 3**  
**Perbandingan antara hasil pemeriksaan ICT-TB darah kapiler terhadap sputum BTA**

		BTA sputum		Total
		+	-	
ICT-TB darah kapiler	+	7	0	7
	-	10	13	23
ICT-TB darah kapiler	Total	17	13	30

Perhitungan nilai sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif dan negatif ICT-TB serum terhadap sputum BTA dari Tabel 2 adalah 58,9%; 92%, 90,1%, 63%. Nilai sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif dan negatif ICT-TB darah kapiler terhadap sputum BTA dari Tabel 3 adalah 41,1%; 100%, 100%, 56%.

## PEMBAHASAN

Nilai sensitivitas dan spesifisitas ICT-TB serum terhadap sputum BTA sesuai dengan penelitian oleh S. Pottumarthy dalam uji terhadap beberapa ICT-TB yang menyatakan bahwa sensitivitas berkisar antara 16%-57% dan spesifisitas berkisar antara 80%-97%.<sup>10</sup> Kedua nilai dalam penelitian ini lebih tinggi dari penelitian yang dilakukan oleh Bartoloni dkk yang menyatakan bahwa sensitivitas dan spesifisitas ICT-TB adalah 56,7% dan 90,4%.<sup>11</sup> Nilai sensitivitas penelitian ini juga lebih tinggi dari hasil penelitian sebelumnya oleh Gozde Ogut dkk yang menyatakan sensitivitas ICT-TB adalah 33,3%, sedangkan nilai spesifisitas penelitian ini lebih rendah dari penelitian yang sama dengan spesifisitas 100%.<sup>12</sup> Hasil yang berbeda ini dapat terjadi karena hasil positif pemeriksaan sputum BTA yang diperoleh tergantung pada jumlah bakteri dalam sputum, serta hasil pemeriksaan dengan ICT-TB tergantung dari banyaknya antigen dan respon antibodi pada pasien.<sup>1,3,8,10</sup>

Terdapat satu hasil dimana BTA sputum negatif tetapi diperoleh hasil positif pada ICT-TB serum. Hal ini diperkirakan karena jumlah kuman pada sputum penderita masih sedikit hingga tidak terdeteksi secara mikroskopis, akan tetapi alat dapat mendeteksi anti-TB yang terdapat dalam darah penderita.<sup>1,3,13</sup> Kemungkinan kedua adalah penderita memiliki TB ekstra pulmonal, dimana tidak ditemukan kuman BTA dalam sputum tetapi terdapat anti-TB dalam darah penderita, sehingga terdeteksi positif pada serologis ICT-TB, seperti yang dinyatakan oleh Keyghobad Ghadiri dkk.<sup>14</sup>

Sebanyak 11 peserta dengan hasil positif pada pemeriksaan ICT-TB serum, sebanyak 7 (63,6%) yang dinyatakan positif dengan sampel darah kapiler, sedangkan 4 sampel lain dinyatakan negatif. Hal ini diperkirakan karena dalam sampel darah kapiler masih berisi sel-sel darah, sehingga antibodi yang terkandung dalam tetesan darah yang dimasukkan dalam lubang untuk sampel lebih sedikit dibandingkan dengan dalam sampel serum.<sup>4</sup> Sembilan belas peserta dengan hasil negatif pada pemeriksaan ICT-TB serum seluruhnya dinyatakan negatif pula oleh ICT-TB pada darah kapiler.

## SIMPULAN

Nilai sensitivitas dan nilai ramal negatif ICT-TB serum lebih tinggi dibandingkan dengan ICT-TB darah kapiler terhadap sputum BTA, sebaliknya nilai spesifisitas dan nilai ramal positif ICT-TB serum lebih rendah dibandingkan ICT-TB darah kapiler terhadap sputum BTA.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Departemen Kesehatan RI. Pedoman nasional penanggulangan tuberkulosis. Ed.2. Jakarta; 2008
2. Sub Direktorat TB Depkes RI dan WHO. Lembar fakta tuberkulosis. 2008. (Available from): URL: [http://www.tbindonesia.or.id/pdf/Lembar\\_Fakta\\_TB.pdf](http://www.tbindonesia.or.id/pdf/Lembar_Fakta_TB.pdf)
3. McPherson, Richard A.; Pincus, Matthew R. Henry's Clinical Diagnosis and Management Laboratory Methods. 21<sup>th</sup> Ed. USA; 2007
4. Saher; Ronald A; McPherson, Richard A. Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium. Ed 11. Jakarta : EGC; 2004.
5. Handoyo, Indro. Imunoasai terapan pada beberapa penyakit infeksi. Ed 1. Surabaya : Airlangga University Press; 2004
6. Handoyo, Indro. Pengantar imunisasi dasar. Surabaya: Airlangga University Press; 2003
7. Gounder C; Mello dQ; Carvalho F; Marcus CB; William RB; Afraniol K; Richard CE; et al. Field evaluation of rapid immunochromatography for tuberculosis. *Journal of Clinical Microbiology* 2002; 1989-93
8. WHO. Laboratory-based evaluation of 19 commercially available rapid diagnostic test for tuberculosis (Diagnostic evaluation series no.2). (Available from): URL: <https://apps.who.int/tdr/publications/tdr-research-publications/diagnostics-evaluation-2/pdf/diagnostic-evaluation-2.pdf>
9. Fokus Diagnostic. Rapid test tb cassette manual procedure
10. Pottumarthy S; Virginia CW; Arthur J.M. A comparison of seven tests for serological diagnosis of tuberculosis. *Journal of Clinical Microbiology* 2000; 38(6): 2227-31
11. Bartoloni A; Strohmeyer M; Bartalesi F; Messeri D; Tortoli E; Farese A; et al. Evaluation of a rapid immunochromatographic test for serologic diagnosis of tuberculosis in Italy. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9:632-9
12. Ongut G; Ogunc D; Gunseren F; Ogus; Domez L; Colak D; et al. Evaluation of ICT Tuberculosis test for the routine diagnosis of tuberculosis. *BMC Infection Disease* 2006; 6:37.
13. Azar D,K; Torabizadeh R; Landi A. Investigation of the level of IgG, IgM and IgA antibodies against A60 antigen in tuberculosis patients referred to PHLS, Ahvaz, Iran. *Pak J Med Sci* 2005; 21(4):465-9
14. Ghadiri K; Izadi B; Afsharian M; Vaziri S; Rezaei M; Namdari S. Diagnostic value of serological test (IgA, IgG, IgM) against A-60 antigen in tuberculosis. *Iranian Journal of Clinical Infectious Disease* 2008; 3(4):205-8