

Perbandingan Hasil Uji Coba ELISA Makro pada Penderita Tuberkulosis Paru Biakan Positif dan Negatif

Anik Widiyanti

Instalasi Patologi Klinik RSUD Dr Sa Anwar/Fakultas Kedokteran Universitas Brawidjaja, Malang

ABSTRAK

Penelitian dilakukan pada 61 sera penderita tuberkulosis paru, 35 sera dengan biakan dahak positif dan 26 dengan biakan dahak negatif. Pada sera ditentukan kadar IgG spesifiknya terhadap *M. tuberculosis* dengan cara Elisa makro.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa kadar IgG spesifik pada penderita dengan biakan positif secara bermakna lebih kecil dari kadar IgG spesifik penderita dengan biakan negatif ($p < 0,05$).

PENDAHULUAN

Penyakit tuberkulosis (TB) masih merupakan masalah kesehatan masyarakat di Indonesia⁽¹⁾. Berdasarkan program pemberantasan penyakit TB di Indonesia maka pengobatan ditentukan dengan adanya kuman di dalam dahak⁽²⁾. Hal tersebut berdasar padapertimbangan bahwapemeriksaan dahak mikroskopis yang positif lebih mempunyai arti epidemiologi dibandingkan dengan biakan yang positif. Untuk mendapatkan hasil positif pada pemeriksaan mikroskopik dibutuhkan 5000–10000 kuman per ml dahak, sedangkan untuk biakan yang positif hanya dibutuhkan 25–50 kuman per ml dahak⁽³⁾. Pemeriksaan mikroskopik yang positif belum tentu menunjukkan kuman hidup, tetapi biakan yang positif selalu disebabkan adanya kuman hidup, hanya sayangnya pemeriksaan biakan selain membutuhkan waktu lama (1–2 bulan) juga relatif lebih mahal⁽⁴⁾. Adanya kuman dalam dahak, dapat memberikan hasil biakan negatif bila kumannya mati. Dengan kenyataan tersebut maka seharusnya penderita dengan kuman mati akan mempunyai kadar IgG yang berbeda dan penderita yang biakannya positif (kuman hidup). Kadar IgG spesifik terhadap *M. tuberculosis* sering meningkat sesudah penderita TB mendapatkan pengobatan dan akan normal kembali

pada 2–3 bulan sesudah pengobatan dihentikan, serta akan meningkat lagi jika terjadi kekambuhan⁽¹⁾.

Kadar IgG spesifik terhadap *M. tuberculosis* pada penderita dapat juga dapat ditentukan dengan cara Elisa makro. Sensitivitas, detektabilitas dan presisi Elisa makro lebih baik dibandingkan dengan Elisa mikro, tetapi Elisa makro harganya relatif mahal dan lebih cocok untuk jumlah sampel yang kecil⁽⁵⁾.

Dalam penelitian ini akan diperiksa apakah ada perbedaan hasil Elisa makro antara biakan positif dan biakan negatif.

MATERIAL DAN METODE

Sampel diambil dari 61 penderita TB Paru dengan kriteria:

- 1) BTA dahak (mikroskopik) yang positif (Ziehi Nielsen)
- 2) Kelainan radiologis yang relevan untuk TB Paru
- 3) Belum pernah mendapat pengobatan anti TB (wawancara cermat)
- 4) Keadaan umum baik, serta tidak minum obat yang dapat menekan imunitas humoral.

Cara pelaksanaan:

- 1) Dilakukan pemeriksaan biakan dahak.
- 2) Pemeriksaan kadar IgG dengan cara Elisa makro dilakukan

seperti pada Elisa mikro cara Kardjito dkk, hanya digunakan tabung polistiren dan volumenya 3 kali lebih besar^(5,6).

Ke dalam tabung polistiren dimasukkan 0,6 ml antigen sitoplasmik dan *Mycobacterium tuberculosis var bovis BCG (Ultrasonicated)* pengenceran 1: 100 dan diinkubasikan dalam kotak lembab pada 4°C selama semalam. Kemudian tabung polistiren dicuci dengan larutan dapar fosfat salin tween (PBS tween) sebanyak 3 kali. Sesudah itu ditambahkan 0,6 ml serum (pengenceran 1: 500) dan diinkubasikan selama 2jam pada suhu kamar, kemudian dicuci seperti di atas.

Berikutnya ditambahkan 0,6 ml konyugat (antihuman IgG berlabel enzim peroksidase) dengan pengenceran 1 : 1000, diinkubasi semalam pada 4°C. Sesudah inkubasi sisanya dibuang dan tabung dicuci seperti di atas.

Selanjutnya dimasukkan 0,6 ml substrat (H₂O₂ 0,03% dan ABTS), inkubasi 30 menit. Tambahkan 0,150 ml NaF 1 N sebagai larutan penghenti reaksi. Pembacaan dilakukan pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 420 nm^(5,6).

Dalam tiap seri pemeriksaan dipakai serum kontrol yang sama, yang juga berguna untuk menghitung CV antar seri (*between run*) dan dalam 1 seri (*intra run*).

3) Penentuan batas atas nilai rujukan (*cut off*) pemeriksaan dilakukan dengan memeriksa 34 perawat sehat, dan dipakai rumus:

$$\text{Cut off} = \text{mean} + 2 \text{ SD}$$

Cut off dipakai untuk membedakan hasil positif dan negatif dan Elisa makro. Nilai absorbance di atas *cut off* menunjukkan hasil positif, sedangkan nilai absorbance di bawah nilai *cut off* menunjukkan hasil negatif.

4) Perhitungan CV (koefisien variasi) dan Elisa makro dengan

$$\text{Rumus} : = \frac{\text{SD}}{\text{Mean}}$$

Pengaruh CV terhadap sensitifitas tes diperbandingkan pada kedua kelompok biakan.

5) Untuk membandingkan kadar IgG spesifik antara 2 kelompok biakan positif dan negatif dipakai uji statistik *Student t*⁽⁷⁾.

6) Penentuan sensitifitas pemeriksaan dengan rumus:

$$\frac{\text{jumlah penderita dengan Elisa makro positif}}{\text{jumlah penderita Tb dalam penelitian}}$$

7) Perbedaan sensitifitas (nilai diagnostik) uji Elisa makro dari kedua kelompok biakan positif dan negatif dihitung dengan uji statistik McNemar⁽⁸⁾.

HASIL

1) Pemeriksaan Elisa makro pada 34 perawat sehat.

Cut Off pemeriksaan = 0,574 *absorbance unit*

Mean (nilai rata-rata) = 0,300

SD (simpangan baku) = 0,137

CV (koefisien variasi) *between run* = 28,77%

within run = 16,11%

2) Untuk mengetahui pengaruh besarnya CV terhadap sensitifitas (nilai diagnostik) pada Elisa makro, maka dilakukan perhitungan berbagai *cut off*.

Cut off 28,77% lebih besar *mean* + 2 SD : 0,739

Cut off 28,77% lebih kecil *mean* + 2 SD : 0,409

Cut off dengan *mean* + 3 SD : 0,7 11

3) Tabel 1. Hasil Elisa makro pada penderita TB Paru baru

	Biakan positif	Biakan negatif
Jumlah kasus	35	26
<i>Mean</i> War IgG spesifik	1,094	1,385
SD	0,560	0,463
Rentang	0,160-1,800	0,180-1,810
Sensitifitas	80%	92,30%
Perbedaan bermakna	p < 0,05	

4) Tabel 2. Hasil sensitifitas Elisa Makro dengan berbagai batas atas nilai rujukan

<i>Cut off value</i>	Dahak positif N=61	Biakan positif N=35	Biakan negatif N=36
0,409	86,88%	82,85%	92,30%
0,574 *	85,24 % *	80,00 % *	92,30 % *
0,739	80,32%	71,42%	92,30%
0,711	80,32%	71,42%	92,30%

Keterangan:

* Batas atas nilai rujukan dengan rumus *mean* + 2 SD (lama). Tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara sensitifitas dengan batas atas nilai rujukan baru dan lama (p > 0,05).

PEMBAHASAN

Penderita tuberkulosis (TB) yang mendapat pengobatan, kadar IgG spesifiknya akan meningkat dan mencapai puncaknya pada 3 bulan pengobatan, kemudian akan menurun lagi secara perlahan dan mencapai kadar orang normal pada 3 bulan sesudah pengobatan dihentikan, serta akan meningkat lagi jika terjadi kekambuhan (*relaps*)⁽¹⁾. Pengobatan yang diberikan kepada penderita juga dapat menyebabkan perubahan pengeluaran kuman hidup dalam dahak menjadi kuman yang mati (dahak mikroskopik positif tetapi biakan negatif). Hal tersebut dapat dilihat dari data kami: dari 61 penderita dengan dahak mikroskopik positif hanya 35 yang menunjukkan biakan positif. Keadaan tersebut dapat terjadi karena pemilihan kasus TB paru hanya berdasar pada wawancara, sehingga sering terjadi kesalahan apakah benar-benar kasus baru (yang belum pernah mendapat pengobatan) atau kasus yang sudah pernah diobati.

Dari kenyataan di atas maka kadar IgG spesifik pada penderita yang menunjukkan biakan positif (masih mengeluarkan kuman hidup dalam dahaknya) lebih rendah dibandingkan dengan penderita yang mengeluarkan kuman mati (biakan negatif), karena mungkin sudah mendapatkan pengobatan. Hasil penentuan kadar IgG spesifik dengan Elisa makro menunjukkan seperti yang diperkirakan, yaitu kadar IgG spesifik pada kelompok dengan biakan positif lebih rendah dari kelompok dengan biakan negatif (p < 0,05). TB dengan dahak mengandung kuman hidup (biakan positif) mempunyai kadar IgG spesifik lebih rendah karena penderita tersebut mempunyai antigen yang berlebihan. Antigen yang berlebihan dapat menekan respon imun-humoral dan menyebabkan rendahnya kadar IgG spesifik⁽⁹⁾. Di samping itu antigen berlebihan juga akan mengikat antibodi dalam sirkulasi, kemudian membentuk kompleks imun dengan

akibat turunnya kadar IgG spesifik dalam darah⁽¹⁰⁾.

Perubahan batas atas nilai rujukan (*cut off*) dengan memperhitungkan CV, ternyata tidak mempengaruhi sensitifitas (nilai diagnostik) dan uji Elisa makro ($p > 0,05$). Hal ini sangat menguntungkan karena besarnya CV ternyata tidak berpengaruh pada nilai diagnostik uji Elisa makro, sedangkan kegunaan uji Elisa makro untuk evaluasi tindak lanjut masih memerlukan penelitian lebih lanjut.

KESIMPULAN

Penentuan kadar IgG spesifik pada Elisa makro menunjukkan:

- 1) Kadar IgG spesifik pada kelompok dengan biakan positif lebih rendah dibanding kadar IgG spesifik pada kelompok dengan biakan negatif ($p < 0,05$).
- 2) Perubahan batas atas nilai rujukan dengan memperhitungkan CV dan pemakaian rumus $cut\ off = mean + 3\ SD$ ternyata tidak mempengaruhi sensitifitas (nilai diagnostik) dan uji Elisa makro ($p > 0,05$).

KEPUSTAKAAN

1. Handojo I. Uji Peroksidase-Antiperoksidase (PAP pada Penyakit Tuberkulosis Paru (Disertation) Surabaya, Indonesia: Universitas Airlangga Surabaya, 1988. 213 p.
2. Ditjen P3M Depkes RI. Rencana Induk Pemberantasan Penyakit Tu berkulosis Paru di Indonesia. Surabaya; Konggres PPTI ke III, September 1984.47-69.
3. Handojo RA. Review Hasil-hasil Penelitian mengenai Tuberkulosis Paru. Laporan kepada Kepala Badan Penelitian & Pengembangan Kesehatan, Depkes RI. Balai Pemberantasan Penyakit Paru-paru (BP4) Malang 1978.
4. Koneman EW dkk. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Micro biology. 3rd ed. JB Lippincott Co USA 1988 535°572.
5. Anik W, Handoyo I. Nilai Diagnostik Uji Elisa Makro pada Penyakit Tuberkulosis Paru (Kaiya akhir di bagian Patologi Klinik FK) Surabaya, Indonesia: Universitas Airlangga Surabaya, 1990.
6. Handoyo I, Anik W. Nilai Klinis Uji Elisa Makro pada Penyakit Tuberkulosis Paru. Cermin Dunia Kedokt 1993; 88: 45-48.
7. Sutrisno Hadi. Statistik Jilid 2. 9th ed. Yayasan Penerbitan Fakultas Psikologi UGM Yogyakarta 1987 256-284.
8. Sidney Siegel. Statistik Non Parametrik untuk ilmu-ilmu sosial. 2nd ed. Gramedia Jakarta Indonesia 1986 : 77-81.
9. Chaparas SD. Immunity in Tuberculosis. Bull WHO 1982; 60(4): 447-462.
10. Bhattacharya A, Ranadive SN, Kale M, Bhattacharya S. Antibody-Based Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Determination of Immune Complexes in Clinical Tuberculosis. Am Rev Respir Dis; 134: 205-209.



.....Terasa kelelahan
terus menerus sebulan
penuh, berat badan
turun drastis, sariawan

