

# Pemeriksaan serologik menggunakan antigen lipoarabinomannan untuk diagnosis tuberkulosis paru

Ning Rintiswati, Praseno, Suparwoto Saleh  
Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada,  
Yogyakarta

## ABSTRACT

Ning Rintiswati, Praseno, Suparwoto S - *Serological examination using lipoarabinomannan antigen for the diagnosis of pulmonary tuberculosis*

Tuberculosis is still an important public health problem, especially in the developing countries. Efforts have been made to overcome the problem. However, tuberculosis control program has not yet been satisfactory. This is due to various factors which might affect the development of the disease, including poverty, lack of understanding about the disease, relatively long period of time needed for treatment as well as increasing number of resistant strain against antimycobacterial drugs. One of the most important ways in controlling tuberculosis is case finding. An accurate and reliable diagnostic kit is also needed to establish the diagnosis. In this study we evaluated sensitivity and specificity of lipoarabinomannan as antigen for serological examination (Mycodot) in patients suspected of having tuberculosis. Using culture of sputum as gold standard, we observed that the sensitivity and specificity of Mycodot were 50% and 70.59%, respectively. This sensitivity was much lower than that of previous study. Interestingly, we found that 47,55% of suspected cases were negative for all three different examinations (acid fast, culture and Mycodot). With respect to this finding it is suggested that better and proper microbiological examination is required to diagnose patient with suspected tuberculosis

Key words: Tuberculosis - Lipoarabinomannan - Mycodot - Acid fast - Mycobacterial Culture

## ABSTRAK

Tuberkulosis masih merupakan masalah kesehatan yang penting, terutama di negara sedang berkembang. Berbagai usaha untuk menanggulangi penyakit ini telah dilakukan, namun belum diperoleh hasil seperti yang diharapkan. Hal tersebut disebabkan oleh beberapa faktor antara lain kurangnya pengetahuan mengenai penyakit ini, jangka pengobatan yang panjang, peningkatan strain bakteri yang resisten terhadap antibiotika. Salah satu unsur penting pada penanggulangan penyakit tuberkulosis adalah penemuan kasus baru. Untuk ini sarana diagnosis yang akurat dan terpercaya mutlak diperlukan. Pada penelitian ini telah dievaluasi sensitivitas dan spesifisitas pemeriksaan serologik yang menggunakan antigen lipoarabinomannan (Mycodot) pada pasien tersangka tuberkulosis paru. Dengan menggunakan biakan sputum sebagai standar utama, diperoleh sensitivitas dan spesifisitas sebesar 50% dan 70,59%. Sensitivitas ini lebih rendah dibandingkan dengan penelitian sebelumnya menggunakan antigen yang sama. Pada penelitian ini ditemukan 47,55% kasus negatif untuk ketiga pemeriksaan yang diujikan (pemeriksaan langsung bakteri tahan asam, biakan, Mycodot). Penemuan tersebut menunjukkan bahwa kemampuan diagnosis dan fasilitas pemeriksaan mikrobiologik perlu ditingkatkan dalam rangka penanggulangan penyakit tuberkulosis.

(B.I.Ked. Vol 29, No. 3:115-119, September 1997)

## PENGANTAR

Tuberkulosis telah lama dikenal sebagai penyakit menahun, disebabkan oleh *Mycobac-*

*terium tuberculosis*. Kuman tersebut dapat menyerang hampir ke seluruh organ tubuh, namun organ yang paling sering adalah paru-paru.

WHO menyatakan bahwa tuberkulosis merupakan *Global emergency* karena sebagian besar kasus terdapat di negara berkembang yang kemampuan ekonominya rendah sehingga diperkirakan akan sulit penanggulangan penyakit tersebut<sup>7</sup>.

Di negara sedang berkembang seperti Indonesia, penyakit tuberkulosis paru masih merupakan masalah kesehatan, kasusnya akan semakin meningkat sesuai dengan perkembangan HIV/AIDS. Tentu saja penyakit ini akan berdampak terhadap pembangunan mengingat sebagian besar penderitanya (80%) adalah golongan usia produktif yakni 15 - 49 tahun, dan sebagian berasal dari tingkat ekonomi lemah<sup>7,8</sup>.

Bank Dunia pada tahun 1993 menyatakan bahwa tuberkulosis merupakan 7,7% dari seluruh masalah penyakit di Indonesia, dan merupakan penyebab kematian nomor dua setelah penyakit kardiovaskular. Di antara kelompok penyakit infeksi tuberkulosis merupakan penyebab kematian pertama. Diperkirakan terdapat kurang lebih 500.000 penderita bakteri tahan asam (BTA) positif setiap tahun di Indonesia, dengan angka kematian 175. Indonesia berencana menekan kasus tuberkulosis paru dari 0,3% menjadi 0,2% pada tahun 2000. Namun, penanggulangan penyakit tuberkulosis tidaklah mudah mengingat banyak kendala yang harus dihadapi, antara lain biaya pengobatan, kemiskinan, jangka pengobatan yang panjang, kurangnya pengertian tentang penyakit ini, dan makin berkembangnya kasus HIV/AIDS, di samping meningkatnya strain bakteri resisten antibiotik<sup>5,8,1</sup>.

Dalam usaha penanggulangan penyakit tuberkulosis paru salah satu unsur yang sangat penting adalah penemuan kasus baru, untuk ini sarana dan prasarana diagnostik mutlak diperlukan. Diagnosis tuberkulosis paru kadang-kadang sulit ditegakkan karena interpretasi yang meragukan, disebabkan oleh banyaknya kelemahan sarana diagnosis yang umum dilakukan, baik dalam hal ketepatan, kepraktisan, waktu dan biaya.

Biasanya diagnosis penyakit ini ditegakkan dengan mengacu pada gambaran klinis, radiologik, dan pemeriksaan serologik. Pemeriksaan radiologik sampai saat ini masih merupakan metode

yang digunakan untuk menemukan lesi tuberkulosis, namun faktor kesalahan pada pemeriksaan tersebut berkisar 25%, sering dianggap tidak adekuat karena kurang spesifik. Di samping itu pada saat ini telah muncul problem baru yakni meningkatnya pasien TBC dengan infeksi HIV, tentunya hal tersebut akan menyulitkan kesimpulan berdasar pemeriksaan radiologik.<sup>13,15</sup>

Pemeriksaan sputum pada penderita dengan metode mikrobiologik pada tuberkulosis paru miliar dan tuberkulosis anak jarang mendapatkan hasil memuaskan. Untuk pemeriksaan tersebut diperlukan jumlah dahak cukup dengan pengambilan yang benar, sensitivitas metode ini hanya berkisar antara 22%-43%. Untuk memberi kemungkinan hasil positif pemeriksaan sputum langsung BTA diperlukan jumlah bakteri sekurang-kurangnya  $10^4$ - $10^5$  per ml sputum biakan kuman dapat memberikan hasil lebih baik namun diperlukan waktu 4-8 minggu dengan biaya yang cukup mahal. Uji tuberculin merupakan cara pemeriksaan reaksi imunitas selular. Tuberkulin positif tidak hanya ditunjukkan oleh penderita tuberkulosis aktif, tetapi juga oleh individu yang mengalami infeksi karena mikobakteria yang lain<sup>13,14</sup>.

Dari uraian di atas dapat ditunjukkan bahwa banyak kelemahan sarana diagnostik rutin yang menghambat penanggulangan tuberkulosis. Agar tujuan penanggulangan penyakit tersebut dapat tercapai perlu kiranya dikembangkan sarana diagnosis khusus, antara lain pengembangan pemeriksaan imunoserologik menggunakan antigen yang spesifik bagi mikobakteria.

Akhir-akhir ini telah dikembangkan suatu pemeriksaan serologik yang ditujukan untuk mendeteksi antibodi mikobakteri pada serum ataupun darah dengan menggunakan antigen yang merupakan penyusun dinding sel atau selubung sel mikobakterium. Salah satu molekul yang dominan sebagai penyusun selubung sel mikobakteria adalah lipoarabinomanan (LAM), merupakan polisakarida yang aktif secara serologik. Beberapa penelitian serologi menggunakan antigen ini dengan metode koaglutinasi dan ELISA telah dilakukan dengan hasil yang menunjukkan sensitivitas cukup tinggi, yakni 60-70% dengan spesifisitas 90-100%<sup>12,13</sup>.

LAM memiliki spektrum lebar dalam fungsinya sebagai imunoregulator seperti menghambat

aktivasi sel T, menghambat aktivasi yang diperantarai interferon pada makrofag tikus, berpotensi sebagai radikal bebas yang sitotoksik, dapat menghambat aktivitas protein kinase, membangkitkan kelompok sitokin yang berbeda seperti TNF, *granulocyte macrofage colony stimulating factor* IL-1a, IL-1b, IL-6, IL-10. Jadi dapat disimpulkan bahwa LAM memperantarai produksi sitokin oleh derivat makrofag yang mampu meningkatkan berbagai manifestasi klinik tuberkulosis dan lepra<sup>2</sup>.

Dalam penelitian ini akan dipelajari sensitivitas antara pemeriksaan serologi menggunakan antigen lipoarabinomannan (LAM) dibandingkan dengan pemeriksaan sputum penderita dengan pemeriksaan langsung BTA dan biakan bakteri. Adapun sebagai fasilitas diagnostik serologik digunakan kit Mycodot.

## CARA PENELITIAN

Dalam penelitian ini diperiksa sputum dan serum penderita tersangka tuberkulosis paru (111 kasus) yang berasal dari Poli paru, Unit Penyakit Dalam (UPD), Unit Penyakit Anak (UPA) R.S Dr. Sardjito (43 kasus), R.S Swasta (22 kasus), sisanya diambil dari Dokter praktek, Puskesmas, dan Klinik di DIY (46 kasus). Sebagai kontrol diambil 30 sera dari individu sehat. Penelitian dilaksanakan pada bulan April-Agustus 1996 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UGM. Sputum penderita yang telah dihomogenisasi dengan metode Kubica, diperiksa secara langsung dengan metode Ziehl Neelsen, diamati di bawah mikroskop adanya bakteri tahan asam (BTA). Biakan bakteri hanya dilakukan terhadap sejumlah 40 sputum mengingat waktu penelitian yang terbatas (untuk biakan diperlukan waktu 3 - 8 minggu). Media untuk biakan digunakan Loewenstein Jensen. Pengujian serologik untuk pemeriksaan adanya anti LAM dilakukan dengan menggunakan kit diagnostik *Mycodot*, dengan langkah-langkah sbb: serum penderita sebanyak 20 µl dimasukkan ke dalam lubang sumuran mikrotiter ditambah dengan pelarut 180 µl, sisir yang telah mengandung antigen LAM dimasukkan pada lubang sumuran selama 10-15 menit. Kemudian sisir dicuci dengan PBS, dikeringkan, setelah itu dimasukkan ke dalam lubang sumuran

lain yang telah mengandung larutan cat selama 10 menit, cuci kembali dan keringkan. Antigen LAM yang terkandung pada permukaan sisir akan bereaksi terhadap antibodi spesifik pada serum pasien. Reaksi antigen-antibodi akan menimbulkan noda berwarna jingga pada sisir tersebut. Data penelitian dianalisis dengan menggunakan metode *chi* kuadrat.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari penelitian ini berhasil dikumpulkan 111 serum penderita tersangka tuberkulosis paru, keseluruhan serum diperiksa dengan menggunakan antigen LAM (*Mycodot*), disertai pemeriksaan langsung BTA pada sputum penderita, dan terhadap 40 sputum di antaranya diperiksa pula biakan bakteri tahan asam dengan medium Loewenstein Jensen. Sebagai kontrol digunakan 30 sera berasal dari individu sehat, diperiksa dengan *Mycodot*. Pada kelompok ini semuanya memberikan hasil negatif.

TABEL 1. - Hasil pemeriksaan serologi menggunakan antigen LAM (*Mycodot*), pemeriksaan langsung BTA dan biakan

Pemeriksaan	Jumlah sampel	Jumlah Positif	(%)
1. BTA	111	14	12,8
2. Biakan	40	6	15
3. LAM/ <i>Mycodot</i>	111	46	41,44

Dari TABEL 1 dapat ditunjukkan bahwa secara umum LAM/*Mycodot* terlihat memberikan hasil positif tertinggi (41,44%) di antara kedua pemeriksaan pembandingan yakni biakan dan pemeriksaan langsung BTA. Apabila hanya dibandingkan dengan pemeriksaan langsung BTA, tampak bahwa *Mycodot* dengan BTA positif hanya sebesar 5,40%, sedangkan *Mycodot* positif pada BTA yang negatif diperoleh pada 40 kasus (36,03%), hal ini ditunjukkan pada TABEL 2.

TABEL 2. - Hasil pemeriksaan serologi menggunakan LAM (*Mycodot*) pada BTA positif dan BTA negatif terhadap 111 kasus.

Hasil Pemeriksaan	BTA positif		BTA negatif		Total	
	jml	%	jml	%	jml	%
<i>Mycodot</i> positif	6	5,40	40	36,03	46	41,44
<i>Mycodot</i> negatif	8	7,20	57	51,35	65	58,56
Jumlah	14	12,6	97	87,39	111	100

Pada TABEL 1, 2, dan 3 terlihat bahwa Mycodot memberi hasil positif relatif tinggi dibandingkan kedua pemeriksaan pembanding. Dari analisis statistik menggunakan *chi* kuadrat antara kedua pemeriksaan BTA dan Mycodot, dengan  $H_0$  bahwa pemeriksaan Mycodot independen terhadap BTA, ditolak pada tingkat signifikansi  $\alpha = 0,01$  ( $X^2_{db-1}$ ), jadi terdapat hubungan yang sangat signifikan. Bila Mycodot dibandingkan dengan biakan,  $H_0$  bahwa Mycodot independen terhadap biakan ditolak pada tingkat signifikansi  $\alpha = 0,5$  ( $X^2_{db-1}$ ). Dari analisis di atas dapat diartikan bahwa Mycodot dapat menggantikan kedua pemeriksaan pembanding.

TABEL 3. - Hasil pemeriksaan serologi menggunakan LAM (Mycodot) dan pemeriksaan BTA pada biakan positif dan biakan negatif terhadap 40 kasus.

Hasil pemeriksaan	Biakan positif	Biakan negatif	Jml	%
Mycodot positif	3	10	13	32,5
Mycodot negatif	3	24	27	67,5
Jumlah	6	34	40	100
BTA positif	5	2	7	17,5
BTA negatif	6	27	33	82,5
Jumlah	11	29	40	100

Namun, apabila digunakan rumus spesifisitas dan sensitivitas dengan standar pemeriksaan adalah biakan bakteri, maka diperlihatkan bahwa sensitivitas pemeriksaan Mycodot dibandingkan dengan biakan sebagai pemeriksaan standar adalah 50%, nilai ini lebih rendah dibandingkan sensitivitas pemeriksaan BTA yang mencapai 83,33%. Sedangkan spesifisitas Mycodot dan BTA memperoleh nilai hampir sama yakni 70,59% dan 79,41% (lihat TABEL 4). Sensitivitas dan spesifisitas Mycodot ini lebih rendah dibandingkan beberapa penelitian menggunakan antigen LAM oleh peneliti sebelumnya.

TABEL 4.- Sensitivitas dan spesifisitas mycodot dan pemeriksaan langsung BTA dengan standar biakan

Pemeriksaan	Sensitivitas (%)	Spesifisitas (%)
Mycodot	50	70,59
BTA	83,33	79,41

Beberapa penelitian serologi menggunakan antigen LAM dengan metode koaglutinasi dan ELISA telah dilakukan oleh Sada *et al*, dengan hasil yang menunjukkan sensitivitas cukup tinggi, yakni 60-70% dengan spesifisitas 90-

100%<sup>12,13</sup>. Perbedaan antara hasil penelitian ini dengan penelitian oleh Sada *et al*. tersebut kemungkinan karena teknik uji yang berbeda, walaupun antigen yang digunakan sama yakni LAM.

TABEL 5. - Pola hasil serologik LAM/Mycodot, BTA, dan biakan pada 40 kasus pemeriksaan

Persentase	Mycodot	BTA	Biakan
7,5	positif	positif	positif
2,5	positif	negatif	positif
2,0	positif	negatif	negatif
0	positif	positif	negatif
5	negatif	positif	positif
12,5	negatif	positif	negatif
5,0	negatif	negatif	positif
47,5	negatif	negatif	negatif

Pada TABEL 5 dapat ditunjukkan bahwa hanya 7,5% dari ketiga pemeriksaan yang menunjukkan hasil positif, sedangkan 47,5% dari kasus yang diperiksa menunjukkan ketiga pemeriksaan negatif, untuk hal ini banyak hal yang masih perlu dicermati antara lain kualitas spesimen dan pemeriksaan pendukung lainnya, walaupun tidak pula menutup kemungkinan berasal dari kelemahan ketiga pemeriksaan mikrobiologik (Mycodot, BTA, biakan).

Dengan mengacu pada hasil penelitian dan uraian di atas tampaknya Mycodot dapat merupakan alternatif diagnostik tambahan untuk diagnosis tuberkulosis paru. Namun demikian terdapat beberapa kelemahan diagnostik dengan antigen LAM pada umumnya, yakni dapat memberikan positif palsu untuk infeksi *Nocardia*, Histoplasmosis, Paracoccidioidomycosis, dan infeksi oleh mikobakteria lainnya. Hal ini dapat terjadi karena struktur arabinomannan diduga juga merupakan penyusun dinding sel organisme di atas<sup>12,13</sup>.

## KESIMPULAN

1. Dibandingkan dengan pemeriksaan BTA dan biakan, pemeriksaan serologik dengan antigen LAM dapat memberikan hasil positif tertinggi, dan menunjukkan hubungan signifikan dengan kedua pemeriksaan pembanding.
2. Apabila dibandingkan dengan pemeriksaan biakan sebagai standar, maka sensitivitas pemeriksaan serologik menggunakan antigen

LAM lebih rendah dibandingkan pemeriksaan langsung BTA, dengan spesifisitas setara dengan pemeriksaan BTA.

#### KEPUSTAKAAN

1. Aditama TY, Priyadi W. Resistensi primer dan sekunder Mycobacterium tuberculosis di RSUP Persahabatan 1994. *J Resp Indo* 1996;16 (1):
2. Besra GS, Chaterjee D. Lipids and carbohydrat of Mycobacterium tuberculosis. In: Bloom BR, editor. Tuberculosis, pathogenesis, and control. Am Soc for Microbiol, 1994; 2000.
3. Dannenberg Jr AM. Pathogenesis and immunology: Basic Aspect. 3rd In: Schossberg D, Tuberculosis. New York: Springer-Verlag, 1994.
4. Dannenberg Jr AM. Immune mechanism in pathogenesis of pulmonary tuberculosis, *Review of Inf Dis* 1989; 11 (2):369.
5. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Sistem kesehatan nasional. Jakarta: Dep Kesehatan RI, 1988
6. Handoyo I. Uji peroksidase-Anti peroksidase (PAP) pada penyakit tuberkulosis paru, Universitas Airlangga Surabaya, 1988.
7. Mangunegoro H. Tuberculosis dan HIV. *J Resp Indon* 1996;16(2).
8. Manaf A. Permasalahan pemberantasan tuberkulosis di Indonesia. Seminar nasional tuberkulosis dan lepra, Yogyakarta. Pusat Kedokteran Tropis UGM, Maret 1997.
9. Roberts GD, Thomson. Bacteriology dan bacteriologic diagnosis of tuberculosis, In: Schlossberg D (ed). Tuberculosis. 3rd ed, New York: Springer-Verlag, 1994.
10. Rook GA, Bloom WBR: Mechanism of pathogenesis in tuberculosis. In: Bloom BR, editor. Tuberculosis, pathogenesis, and Control. Am Soc for Microbiol, 1994; 2000.
11. Rossman MD, Mayock RL. Pulmonary tuberculosis. In: Schossberg D, editor. Tuberculosis. 3rd ed, New York: Springer Verlag, 1994.
12. Sada E, Brennan PJ, Herrera T, Torres M. Evaluation of lipoarabinomannan for serological diagnosis of tuberculosis *J Clin Micr* 1990;12: 2567-90.
13. Sada E, Aguellar D, Herrera T, Torres M. Detection of lipoarabinomannan as diagnostic test of tuberculosis, *J clin Microbiol*, 1992;9.
14. Soekandar AW. PAP-TB sebagai penunjang diagnosis dan terapi tuberkulosis, *Forum Diagnostikum Prodia Diagnostics*. Ed Services, 1994; 12-34.
15. Tsao TCY, Yuang Y-C, Tsai Y-H, Lan R-S, Lee C-H. Whole lung tuberculosis : A disease with high mortality which is frequently misdiagnosis. *Chest* 1992;101: 1309-11.