

# BAB 1

## **Mycobacterium tuberculosis**

### **Pendahuluan**

Tuberkulosis adalah suatu penyakit infeksi alamiah persisten dan kronik biasanya disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*, namun kadang-kadang oleh spesies lain seperti *M. bovis*, *M. kansasii*, *M. africanum*. Meskipun organisme ini dapat menginfeksi hampir semua organ tubuh, organ paru yang paling sering, oleh karena itu organisme ditularkan dari orang ke orang melalui batuk, bersin, atau berdahak. Penyakit tuberkulosis (TB) umumnya ditetapkan sebagai penyakit menular spesifik yang penting secara sosioekonomik di seluruh dunia. Meskipun bukan penyebab kematian nomor satu di Negara maju (kaya), namun masih menjadi pembunuh terdepan dinegara berkembang atau sedang berkembang.<sup>1-13</sup>

Pada awal abad 16 Fracastorius telah mengungkapkan tentang adanya penyakit tuberkulosis (TB), namun pada saat itu belum diketahui mengenai bakteri penyebabnya. Penelitian mengenai penyakit ini terus dilakukan oleh para cendekiawan. Salah satu hasil penelitian Villemin pada tahun 1865 menunjukkan bahwa penyakit ini dapat ditularkan dengan cara menginokulasikan bahan tuberkulosis dari penderita penyakit tuberkulosis ke orang lain yang peka.



Gerhard Armauer **Hansen**



Girolamo Fracastorius

Penemuan lain dibidang mikobakteriologi terus berlangsung, pada tahun 1868 Gerhard Armauer Hansen melaporkan temuannya yaitu organisma *Mycobacterium leprae*. Dalam waktu kurang dari 20 tahun, tepatnya pada tahun 1882, Robert Koch “Bapak Bakteriologi Modern” menemukan basil tuberkel yang sekarang dikenal dengan *Mycobacterium tuberculosis*.<sup>4-12</sup>

Pada tahun 1891, Heinrich Albert Johne dan Frothingham melaporkan temuan mereka yakni *Mycobacterium paratuberculosis*. Mereka menemukan mikroorganisme ini dari lembu dan biri-biri yang sakit, berupa suatu penyakit enteritis kronis. Berkat penemuan mereka dan sebagai penghargaan, penyakit yang disebabkan oleh *Mycobacterium paratuberculosis* ini diberi nama "*Johne's disease*", Penelitian mengenai penyakit dan mikroorganisme penyebab tuberculosis baik pada manusia maupun pada hewan terus dilakukan oleh para peneliti.

Mengenai penyakit tuberculosis pada manusia, Theobald Smith pada tahun 1896 memaparkan hasil temuannya. Dari hasil penelitiannya tersebut Theobald Smith membedakan yang termasuk tuberkel basil (*Mycobacterium*) mamalia menjadi 2 spesies yang sekarang dikenal dengan *Mycobacterium tuberculosis* dan *Mycobacterium bovis*. Pada masa Theobald Smith, pemahaman tentang penyakit tuberculosis dan penyebabnya masih terbatas. Pada masa itu, penyakit tuberculosis diketahui hanya disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*.

Setelah Gerhard Armauer Hansen menemukan penyebab penyakit lepra (*Mycobacterium leprae*) pada manusia, pada tahun 1905, tuan Stefanky melaporkan penyakit lepra pada tikus.<sup>1,5,9,13</sup>

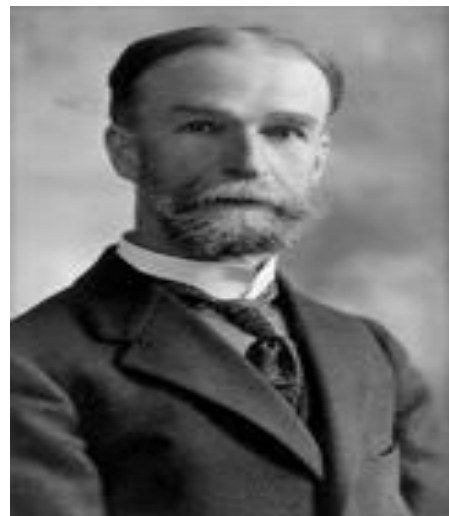
Pada pertengahan tahun tujuh puluhan mulai dapat diterima bahwa *Mycobacteria* lain selain *M. tuberculosis* juga dapat menyebabkan infeksi pada manusia, antara lain *M. kansasii*, *M. avium*, *M. intracellulare*. Diperkirakan 10% infeksi *Mycobacteria* pada manusia disebabkan oleh spesies-spesies ini. Namun sampai kini, penyebab utama tuberculosis pada manusia adalah *M. tuberculosis*. Bukti definitif adanya infeksi tuberculosis pada seseorang adalah dengan menemukan *Typical Mycobacteria* dan atau *Atypical Mycobacteria* dalam specimen atau bahan pemeriksaan (BP) dari penderita.



Heinrich Albert Johne



Frothingham



Theobald Smith

Prosedur laboratorium telah banyak dikembangkan hingga saat ini, berkaitan dengan penyakit yang disebabkan oleh *Mycobacteria*. Dari prosedur prosedur yang digunakan tersebut dibagi dalam tiga kelompok berdasarkan sasaran yang dituju yakni: 1). Mendeteksi organisme penyebab atau komponen-komponennya; 2). Mendeteksi respons imun spesifik terhadap organisme penyebab; dan 3). Mendeteksi fenomena sekunder karena proses penyakit tersebut. Hasil terbaik kemungkinan dapat dicapai dengan cara kombinasi dari 3 metode di atas.<sup>4,7-19</sup>



Robert Koch

## Klasifikasi *Mycobacteria*.

*Mycobacteria* adalah mikroorganisme tahan asam termasuk dalam famili *Mycobacteriaceae*, genus *Mycobacterium*, terdiri dari beberapa spesies yang patogen pada manusia..

Organisma yang termasuk dalam genus *Mycobacteria* dapat dibedakan menjadi tiga kelompok:<sup>3-7, 9-16,20-22</sup>

1. *Typical Mycobacteria* atau *Mycobacterium tuberculosis complex*, yang menyebabkan tuberkulosis pulmoner dan tuberkulosis non-pulmoner.
2. *Atypical Mycobacteria* atau *Unclassified Mycobacteria* atau *Anonymous Mycobacteria* atau *Nontuberculous Mycobacteria* (NTM),
3. *Mycobacterium leprae*. yang menyebabkan penyakit kusta atau lepra

Yang termasuk *Typical Mycobacteria* adalah *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis* subsp. *bovis* dan subsp *caprae* *Mycobacterium canettii* (*M ulcerans*), *Mycobacterium africanum*, dan *Mycobacterium microti*. *M. africanum* dan *M. microti* sekarang dimasukkan menjadi subspecies dari *M. tuberculosis*. *M. tuberculosis* memiliki genom terkecil dibanding anggota lain yang ada di alam. Dari hasil sekuensing genom *M. tuberculosis* mempunyai 4,411,522 bp dengan 3 924 open reading frames, 65,6% GC. 50% gena ditranskripsi dengan arah yang sama seperti replikasi kromosom.

*Atypical Mycobacteria* oleh Runyon dan Timpe (1959) dibagi jadi 4 golongan atas dasar sifat pertumbuhan, kemampuan membentuk pigmen dan sifat biokimia, yakni:<sup>1,5,9,13,15,19</sup>

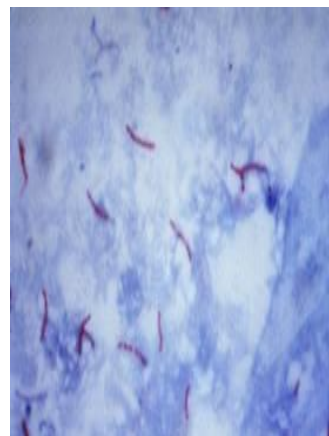
1. Fotokromogen  
*M. marinum*  
*M. kansasii*  
*M. smiae*  
*M. asiaticum*

2. Skotokromogen  
*M. scrofulaceum*, *M. szulgai*, *M. goodnae*, *M. flavescens*, *M. xenopi*
3. Non-fotokromogen  
*M. avium*, *M. intracellulare*, *M. gastri*, *M. malmoense*, *M. haemophilum*, *M. nonchromogenicum*, *M. terrae*, *M. triviale*
4. Tumbuh cepat  
*M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. phlei*, *M. smegmatis*, *M. vaccae*

## Morfologi dan sifat organisme

### **Typical Mycobacteria**

Organisme *Mycobacteria* berbentuk batang lurus atau sedikit melengkung (bengkok), kadang-kadang bercabang atau berbentuk seperti miselium. Bila bentuknya seperti miselium, pada saat pembuatan preparat akan patah karena rapuh, sehingga selnya tampak berupa batang pendek saat dilihat dengan mikroskop. Ukuran sel bervariasi, dengan panjang 1-10  $\mu\text{m}$  dan diameter 0,2 - 0,6  $\mu\text{m}$ . Organisme dalam preparat dapat tersusun satu-satu, kadang tersusun dalam kelompok (globus) yang rapat sampai sel secara individu tidak dapat dikenali, namun sering ditemukan dalam kelompok kecil.<sup>4-6,8-17</sup>



*Mycobacteria* tahan terhadap asam dan alkohol, obligat aerob atau mikroaerofilik, tidak bergerak, tidak membentuk spora, bersifat Gram positif dan tidak mempunyai kapsul. Dinding sel *Mycobacteria* mengandung banyak lemak, berupa asam lemak dengan 60 - 90 atom C atau lebih yang disebut *Mycolic acid*. Karena dinding sel *Mycobacteria* banyak mengandung lemak, menyebabkan organisme ini tahan asam, tahan pengeringan.<sup>5,6,8,9,16</sup> *Mycobacteria* bertahan hidup lama dalam dahak kering. Kuman ini cenderung resisten terhadap disinfektan atau bahan kimia dibanding kuman lain juga karena kandungan lipidnya yang tinggi, kira-kira 25%. Bakteri gram positif kandungan lipidnya hanya 0.5%, sedang bakteri gram negatif kandungan lipid dinding selnya hanya 3%. *M. Tuberculosis* peka terhadap panas (Pasteurisasi) dan sinar UV.

Pertumbuhan organisma pada media artifisial relatif lambat, perlu waktu 2 – 6 minggu atau lebih untuk dapat melihat koloni pada suhu pengeraman yang sesuai. Media artifisial yang dibuat untuk mengisolasi mikroorganisme ini mengandung bahan kompleks misalnya telur dan garam-garam. Media yang biasa digunakan antara lain Kudoh, Lowenstein Jensen (LJ) dan Ogawa. Tidak tumbuh pada perbenihan biasa.<sup>1,12,13</sup> *M. tuberculosis* tumbuh baik pada pH 6,5 - 8,0 dan untuk pertumbuhannya juga membutuhkan unsur-unsur berikut antara lain: karbon ( C ), nitrogen (N), potasium (K), sodium (Na), magnesium (Mg), zink/seng (Zn), ferum/besi (Fe), fosfor (P) dan sulfur/belerang (S). Suhu pertumbuhan optimum berkisar 35<sup>0</sup>C - 37<sup>0</sup>C, tidak tumbuh pada suhu 25<sup>0</sup>C atau suhu 45<sup>0</sup>C.

Invitro, untuk multiplikasi tiap generasi butuh waktu 18 –24 jam. Semua tipe tumbuh pada media yang mengandung serum, telur dan gliserin, misal pada media LJ, Ogawa, Kudoh. Untuk pertumbuhan yang baik, permukaan media harus bebas uap lembab (media tidak boleh basah) dan pertumbuhan lebih besar akan diperoleh bila tekanan CO<sub>2</sub> dinaikkan pada medium atau saat inkubasi.<sup>11</sup>

Koloni *Mycobacterium tuberculosis* tipe human biasanya muncul pada media Lowenstein setelah 2 – 3 minggu pada suhu 36<sup>0</sup>C, Pertumbuhan pertama kecil dengan diameter 1 – 3 mm, kering, gembur, kasar, berbintik-bintik dan berwarna kuning tua. Setelah beberapa minggu koloni bertambah besar, diameter 5 – 8 mm, bentuk koloni mempunyai pinggir datar tidak teratur seperti bunga kol. Pertumbuhan koloni yang bergumpal atau berkelompok, hal ini mungkin karena sifat hidrofobik permukaan sel organisma. Ciri koloni *M. tuberculosis* yang memperlihatkan pertumbuhan yang berlimpah-limpah atau subur, disebut **Eugonic**. Koloni demikian mudah dipisahkan dari permukaan media tetapi sulit dilarutkan. Koloni *M. tuberculosis* tipe human mudah dikenal. Namun jika ada keraguan, maka tes penegasan dengan reaksi biokimia atau percobaan hewan harus dilakukan. Katalase dihasilkan dalam jumlah sedang pada pH 7 (buffer fosfat), tetapi setelah pemanasan pada suhu 68<sup>0</sup>C selama 20 menit katalase tidak dihasilkan. Jenis tipe human yang resisten terhadap INH, biasanya katalase negatif, memperlihatkan koloni halus. Niasin tes sangat penting karena pada umumnya tipe human memberi reaksi positif atau kalau reaksi niasin positif, maka dapat disebut tipe human.

Adapun *M. tuberculosis tipe bovis* membutuhkan pengeraman yang lebih lama, kira-kira 3-6 minggu pada suhu 36<sup>0</sup>C, koloninya kecil, kurang dari 1 mm, translusen (terang, jernih), pertumbuhan kurang subur, disebut **Dysgonic**, permukaan koloni relatif halus, berbentuk piramid, melekat pada permukaan media sehingga sulit dipisah, tetapi mudah dilarutkan. Penambahan gliserol dalam media akan menghambat pertumbuhan *M. bovis*, namun untuk meningkatkannya dengan *Na-pyruvate*.<sup>5,8,13-15</sup> *M bovis* hanya akan tumbuh pada suhu 36<sup>0</sup>C, jika dilakukan pengecatan dari koloni akan tampak sel berbentuk tali berbelit-belit. Uji Niasin dan reduksi nitrat negatif, menyebabkan hewan percobaan (kelinci, marmot, tikus) sakit jika disuntikkan intravenous (IV). Mikroorganisme ini tidak menyebabkan sakit anak ayam, digunakan untuk pembuatan vaksin BCG. *M. bovis* ada dua subspecies yaitu *M. bovis* subsp *bovis* dan *M. bovis* subsp *caprae* (penyebab TB pada kambing).

*M. africanum* sulit diidentifikasi perlu metode biomelukeler canggih seperti spoligotyping (*spacer oligotyping*).

*M. canettii* merupakan variant dari *M. tuberculosis*, ditemukan di Somalia, tumbuh lebih cepat dibanding *M. tuberculosis*, niasin dan reduksi nitrat positif, pertama kali diisolasi dari kelenjar limfe servikal.

Variasi dapat terjadi pada bentuk koloni, pembentukan pigmen, produksi faktor *cord*, virulensi, suhu pertumbuhan optimal, sifat seluler dan sifat-sifat pertumbuhan lain. Pada media artificial, organisme yang tumbuh berupa filamen atau seperti miselium, ketika dibuat preparat dari koloni tersebut, koloni mudah terfragmentasi sehingga bentuk sel menjadi seperti kokus atau kokoid.<sup>5-12</sup>

### **Atypical Mycobacteria**<sup>1,3,5,8,9,12</sup>

Sampai saat ini telah dikenal lebih dari 125 spesies *Mycobacteria* berbeda di luar *Mycobacterium tuberculosis* kompleks yang dapat menyebabkan penyakit non-tuberkulosis (N-TB) pada manusia. Kelompok mikroorganisme ini terdapat di lingkungan dan dapat diisolasi dari air dan tanah, tidak menyebabkan tuberkulosis dan lepra, namun dapat menginfeksi manusia. Untuk membedakan kelompok ini dari *M. tuberculosis* kompleks dan *M. leprae*, mereka dinamakan *Nontuberculous Mycobacteria* (NTM) atau *Mycobacteria other than tuberculosis* (MOTT) atau *Atypical Mycobacteria*. Berdasarkan kemampuan mereka membentuk koloni yang dapat terlihat pada media padat pada kondisi optimal dalam waktu 7 hari atau lebih, MOTT atau NTM dibedakan dalam dua kelompok yakni *Mycobacteria* yang tumbuh lambat dan yang tumbuh cepat. Kemudian oleh Runyon dan Timpe NTM dibedakan menjadi 4 kelompok berdasarkan kemampuan membentuk pigmen setelah disinari cahaya matahari.

Table 1. Beberapa NTM yang menyebabkan penyakit pada manusia

<b>Mycobacteria tumbuh lambat</b>	<b>Mycobacteria tumbuh cepat</b>
<i>M. avium</i>	<i>M. abscessus</i>
<i>M. intracellulare</i>	<i>M. chelonae</i>
<i>M. kansasii</i>	<i>M. fortuitum</i>
<i>M. malmoense</i>	
<i>M. marinum</i>	
<i>M. simiae</i>	
<i>M. szulgai</i>	
<i>M. ulcerans</i>	
<i>M. xenopi</i>	

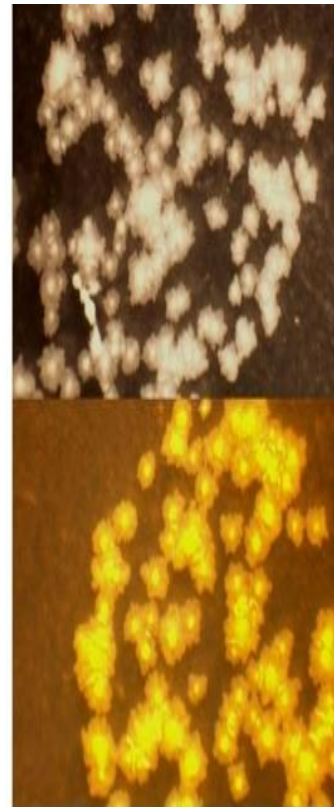
### Fotokromogen (Runyon Group I)

Memperlihatkan pigmen kuning atau orange jika disinari (*M. kansasii*, *M. marinum*). Penyinaran dilakukan paling sedikit selama 1 jam, kemudian dieramkan lagi di tempat gelap, organisme ini akan menghasilkan pigmen **kuning jeruk terang** dalam 6 – 24 jam. Pembentukan pigmen tidak selalu muncul, oleh karena itu klasifikasi berdasarkan pembentukan pigmen bisa tidak tepat. Conyoh yang penting adalah *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium marinum*, dan *Mycobacterium simiae*.



*M. kansasii* colonies  
before exposure

*M. kansasii* colonies  
after exposure to light  
and re-incubation



*M. kansasii* menyebabkan penyakit pulmoner berat, susah dibedakan dengan penyakit pulmoner yang disebabkan *M. tuberculosis*. Penyakit TB karena *M. kansasii* kurang menular dibanding penyakit TB karena *M. tuberculosis*. Pertumbuhan optimal terjadi setelah 2 – 3 minggu pada suhu 36°C, tidak tumbuh pada suhu 45°C. Koloni halus meskipun ada kecenderungan menjadi kasar. *Mycobacterium kansasii* berwarna krem jika dibiakkan pada tempat gelap dan mejadi kuning jeruk terang setelah terpapar dengan cahaya. *M. kansasii* mengasilkan katalase kuat meskipun setelah pemanasan pada suhu 68 °C. Kebanyakan strain tidak menghasilkan niasin, namun mereduksi nitrat. Pada pewarnaan, *M. kansasii*, terlihat panjang seperti pita dan corak sel seperti manik-manik.

*M. marinum* dikaitkan dengan penyakit lesi granuloma pada kulit terutama pada ekstremitas. Biasanya terjadi pada kulit yang mengalami aberasi, kemudian terpapar dengan air yang terkontaminasi oleh karena itu lesi yang disebabkan organisme ini disebut *swimming-pool granuloma*. Organisme ini tumbuh baik pada suhu 25 - 32°C. *M. marinum* **tidak pernah diisolasi dari sputum**, jika disuntik pada tikus menyebabkan lesi pada ekor dan kaki. Prosedur praktis untuk pengujian fotokromogenisitas biakan yang diajukan Kubica adalah sebagai berikut:

1. Dua medium LJ ditanami dengan suspensi biakan yang cukup keruh, satu tabung ditutup dengan aluminium foil atau kertas karbon hitam dan satunya lagi tidak ditutup kertas karbon.

2. Kedua tabung diaramkan pada suhu 36<sup>0</sup>C, untuk biakan tersangka *M. marinum* diaramkan pada suhu 32<sup>0</sup>C - 33<sup>0</sup>C sampai pertumbuhan dapat terlihat pada tabung yang tidak dibungkus
3. Bila tabung yang tidak dibungkus telah memperlihatkan koloni, maka tabung yang dibungkus setengahnya dilepas (jangan semua) dan dilihat warna yang terbentuk, jika tidak ada warna saat dibuka, yang separohnya lagi disinari dengan lampu 60 watt jarak 8 – 10 inci dari tabung, atau dengan sinar matahari, selama 1 jam. Tutup tabung dilonggarkan selama penyinaran.
4. Kemudian tabung ditutup lagi, inkubasi kedua tabung semalam dan tutup tabung dilonggarkan
5. Selanjutnya bandingkan pigmen koloni dari biakan yang tidak ditutup dengan yang ditutup. Interpretasi terhadap pigmen yang terbentuk ditetapkan sebagai berikut:
  - a. Skotokromogen – dibentuk pigmen pada keadaan gelap
  - b. Fotokromogen – berpigmen setelah terpapar dengan cahaya
  - c. Non-fotokromogen – tidak berpigmen baik ditempat gelap maupun ditempat terang.

#### Skotokromogen (Runyon Group II)

Memperlihatkan **pigmen orange-yellow** pada daerah gelap (Scoto = gelap), biasanya **kuning tua** sampai **orange**, warna lebih tua sampai orange atau merah gelap jika biakan dipaparkan pada cahaya terus-menerus selama 2 minggu. Pigmentasi ditempat gelap terjadi pada hampir semua jenis media pada semua tahap pertumbuhan. Yang penting secara klinik adalah *M. scrofulaceum*. Yang kurang atau tidak penting secara klinik adalah *M. gordonae*, *M. szulgai*, *M. flavescens*.

*M. scrofulaceum* tumbuh lambat, koloni halus, ada yang melebar, koloni kuning pada suasana gelap dan terang. Jika dipaparkan pada cahaya terus menerus, pigmen menjadi lebih nyata **sampai orange** atau **merah bata**. Media isolasi yang dibungkus tetap ditempat sampai pertumbuhan pada tabung yang tidak dibungkus terlihat. Koloni pada tabung yang dibungkus selanjutnya harus disinari dengan lampu 60 watt atau dengan sinar matahari. Pertumbuhan awal dapat dihambat oleh sinar yang banyak. Hidrolisis Tween-80 dapat membedakan *M. scrofulaceum* dari organisme yang terdapat dalam air kran. Organisme dalam air kran akan dihidrolisis dalam waktu 5 hari sedang *M. scrofulaceum* negative sampai 3 minggu.

Pertumbuhan *M. gordonae* tumbuh lambat pada media LJ dan 7H 10, biasanya tumbuh setelah 2 minggu dan sering setelah 3 – 6 minggu. Organisme yang memperlihatkan koloni berwarna **kuning-orange** baik ditempat gelap atau terang, menghidrolisis Tween-80.

*M. flavescens* juga menghasilkan koloni **kuning** baik ditempat gelap atau terang, kebanyakan pertumbuhan agak lambat, biasanya tumbuh dalam waktu 1 minggu, mereduksi nitrat dan menghidrolisis Tween-80. Karena pertumbuhannya cepat, beberapa peneliti menempatkan *M. flavescens* dalam grup IV Runyon (*Rapid growers*).



### Non-fotokromogen (Runyon Group III)

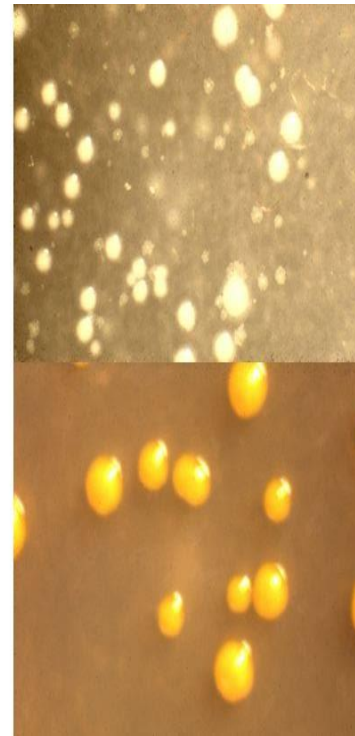
Tidak memperlihatkan pigmen dengan kedua cara di atas (yang ditutup karbon dan yang tidak ditutup). Yang penting secara klinik adalah *M. avium complex* (MAC) dan *M. intracellulare*. Yang tidak penting atau jarang secara klinik adalah *M. gastrii*, *M. terrae complex*, *M. Triviale*, *M. Xenopi*, *M. malmoense*.

#### **Battey-avian complex** atau **“*M. avium - M. intracellulare*”**

( Basil Battey oleh beberapa peneliti dikenal sebagai *M. intracellulare*). Basil Battey pertama kali diisolasi di Battey State Hospital, Georgia, dan bertanggung jawab terhadap penyakit paru yang tidak dapat dibedakan dengan penyakit paru yang disebabkan oleh *M. tuberculosis* dan *M. kansasii*, meskipun jarang terjadi. Kecuali tidak patogen terhadap ayam dan kelinci dan tidak dapat tumbuh pada suhu 45<sup>0</sup>C, sifat *Battey - avian complex* yang lain mirip dengan *M. avium*.

***M. avium* colonies on  
7H11 agar**  
Nonchromogen

***M. gordonae* on 7H11  
agar**



***M. avium*** menyebabkan tuberculosis pada unggas, ternak dan babi. Jika basil avian diisolasi dari manusia (jarang), maka mereka juga virulen pada ayam. Dan penyakit pada manusia oleh organisme ini, sering dapat dirunut dari paparan terhadap infeksi *M. avium* pada unggas dan hewan lain. Di sisi lain *Battey-avian complex* biasanya tidak patogen pada ayam dan pasien yang mempunyai riwayat terpapar pada unggas, babi atau hewan lain.

*M. avium – M. intracellulare* tumbuh lambat pada suhu 36<sup>0</sup>C, biasanya 10 – 21 hari, dan juga tumbuh pada suhu 25<sup>0</sup>C, koloni tipis, translusen, halus, berwarna krim, variant koloni yang kasar dapat menunjukkan *cord*. Organisme-organisme ini menunjukkan sifat niasin negatif, tidak mereduksi nitrat, menghasilkan sedikit katalase. Tidak menghidrolisis Tween-80 dalam 10 hari, namun organisme ini mereduksi tellurit dalam 3 hari.

***M. xenopi*** potensial patogen, telah diisolasi dari sputum pasien penyakit paru di Inggris. Organisme yang mirip telah ditemukan pula dari lesi kulit kodok Afrika Selatan. Pertumbuhan optimal pada suhu 42<sup>0</sup>C, tidak tumbuh pada suhu 22 - 25<sup>0</sup>C. dibutuhkan waktu 4 – 5 minggu untuk menghasilkan koloni kecil, koloni berwarna kuning, koloni seperti akar, pada media 7H10 mirip sarang burung.

Kuman ini menghidrolisis Tween-80, pada uji reduksi telurit menunjukkan reaksi negatif, dan resisten terhadap obat antituberkulosis (OAT).

***M. terrae complex*** (“radish” bacilli). Sejumlah besar organisme ini telah berhasil diisolasi dari tanah dan sayuran juga dari manusia, namun patogenitasnya masih dipertanyakan. Oleh karena patogenitasnya dipertanyakan, maka organisme ini dikeluarkan dari *Batley-avian complex*. Organisme ini tumbuh lambat pada suhu optimalnya 36°C, morfologi koloni memperlihatkan bentuk bulat atau tidak teratur dan teksturnya halus atau granuler. Organisme ini secara aktif menghidrolisis Tween-80, mereduksi nitrate lebih dari 3 hari dan menghasilkan katalase. *M. terrae* resisten terhadap INH dan tidak mensensitasi marmot terhadap derivat protein *Batley* dan *avian*.

***M. gastri*** (“J” bacillus) ditemukan dari bilasan lambung, namun tidak berkaitan dengan penyakit yang bermakna secara klinik pada manusia. Organisme ini tampaknya sangat mirip dengan strain *M. kansasii* yang menghasilkan katalase sedikit. Namun organisme ini mudah dibedakan dari *M. kansasii* sebab *M. kansasii* photochromogenic.

*M. gastri* dapat dibedakan dari anggota grup III *Mycobacteria* lain dengan kemampuannya cepat menghidrolisis Tween-80 dan aktivitas katalasenya hilang pada suhu 68°C, dan tidak mereduksi nitrat.

***M. triviale*** (“V” bacilli) mempunyai koloni yang kasar pada media telur, dapat kelirukan dengan koloni *M. tuberculosis* atau varian *M. kansasii*.

Basil ini telah ditemukan dari pasien dengan infeksi tuberkulosis sebelumnya namun ditetapkan tidak berkaitan dengan infeksi manusia. Organisme ini *Nonphotochromogenic*, reduksi nitrat kuat sampai sedang, aktivitas katalase tetap tinggi pada suhu 68°C, cepat menghidrolisis Tween-80 dan tidak mereduksi nitrat.

Tumbuh cepat (Runyon Group IV)

Koloni dapat terlihat dalam waktu 3 – 7 hari dalam berbagai media pada suhu 25°C atau 36°C. Yang penting secara klinik adalah *M. fortuitum*, *M. abscessus*, *M. chelonae*, *M. mucogenicum*. Yang jarang atau tidak penting secara klinik adalah *M. smegmatis*, *M. phlei*, *M. vaccae*, *M. rhodochrous*.

***M. smegmatis*** dan ***M. phlei*** adalah saprofit dan tidak patogen. Kedua organisme menghasilkan koloni berwarna dan memperlihatkan dari koloninya keluar filament bila ditanam pada *agar-cornmeal-glycerol*. Kemampuan *M. phlei* (“hay bacillus”) menghasilkan banyak CO<sub>2</sub> digunakan untuk menstimulasi pertumbuhan awal *M. tuberculosis* pada 7H 10-agar yang dieramkan dalam kantong impermeable CO<sub>2</sub> (buatan Mylar).

***M. fortuitum*** terlibat pada penyakit pulmoner progresif, biasanya dengan komplikasi berat.

Komplikasi yang berat menjadi dasar atau penyebab kematian pada orang yang terinfeksi oleh kuman ini. Organisme patogen potensial ini juga cepat tumbuh, hanya 2 – 4 hari, umumnya *nonchromogen*. *M. fortuitum* secara mudah dipisahkan dari saprofit yang tumbuh cepat, caranya dengan melakukan uji arylsulfatase dan pertumbuhan pada McConkey. Pada uji arylsulfase, memberikan reaksi positif dalam 3 hari dan tumbuh pada MacConkey agar dalam 5 hari, juga menyebabkan perubahan indikator pada media. Pada media LJ organisme ini memperlihatkan koloni kasar dan halus, menunjukkan warna kehijauan karena mengabsorpsi zat warna dari media LJ.

Organisme tidak virulen pada marmot atau kelinci, tetapi bila kuman ini disuntikkan pada tikus intraperitoneal, maka dalam 12-28 hari setelah penyuntikan akan menghasilkan abses multiple, khususnya pada hati dan lien. Pada uji Niasin menunjukkan tes negatif. *M. fortuitum* biasanya resisten terhadap PAS dan streptomisin, namun peka terhadap INH dan tetrasiklin.

Tabel. Morfologi koloni dan sifat pertumbuhan *Mycobacteria* yang biasa ditemukan dari bahan klinik di Laboratorium

<b>Mycobacteria</b>	<b>Morfologi koloni</b>	<b>Pigmen</b>	<b>Pertumbuhan (minggu)</b>
<b>Tumbuh lambat</b>			
<i>M tuberculosis</i>	Kasar	N (buff)	3-6
<i>M bovis</i>	Kasar, tipis atau transparan	N sp buff	4-6
<i>M avium complex</i>	Halus, kecil, tipis, transparan, opaque	N	3-6
<i>M kansasii</i>	Agak kasar	P	3-6
<i>M gordonae</i>	Halus	S	3-6
<i>M marinum</i>	Berkerut, mengkilap, halus, hemisferikal, kasar (jarang)	P	2
<i>M xenopi</i>	Halus, filamentous	S	3-6
<i>M simiae</i>	Halus	P	3-6
<i>M haemophilum</i>	Agak kasar	N	3-6
<i>M malmoense</i>	Halus, dysgenic	N	2-3
<i>M terrae complex</i>	Halus sampai kasar	N	3-6
<i>M scrofulaceum</i>	Halus, globoid	S	2-3
<i>M szulgai</i>	Halus atau kasar	S	3-6
<b>Tumbuh cepat</b>			
<i>M abscessus</i>	Agak kasar, mengkerut	N	<1
<i>M fortuitum</i>	Mengkerut	N	<1
<i>M chelonae</i>	Halus	N	<1
<i>M mucogenicum</i>	Halus, biasanya mukoid	N	<1
Keterangan: N, nonkromogenik; P, fotokromogenik; S, skotokromogenik			

*M. chelonae* (dulu: *M. bortelense*) terdiri dua subspisies yang berbeda *M. chelonae*, tidak tumbuh pada media NaCl 5%, dan *M. chelonae ssp abscessus*, tumbuh pada media NaCl. Organisme ini meskipun bermakna namun jarang diisolasi sebagai patogen pulmoner. *M. chelonae* ditetapkan sebagai saprofit. Sebagai catatan, mayoritas grup IV tidak terwarnai dengan fluorochrome (Auramine-rhodamine), namun semua terwarnai dengan Ziehl Neelsen.

## Patogenisitas *Mycobacteria*

Kemampuan organisma ini menyebabkan lesi pada berbagai tuan rumah berbeda-beda (Lihat tabel di bawah). *M. tuberculosis* dan *M. bovis* patogen pada manusia. Beberapa *Mycobacterium atipic* misal *M. kansasii* dapat menyebabkan penyakit pada manusia yang tidak dapat dibedakan dengan tuberkulosis, yang lain hanya menyebabkan lesi permukaan atau berperan sebagai bakteri oportunistis. Penyakit-penyakit yang disebabkan oleh spesies *Mycobacteria* dapat dilihat pada tabel di bawah.<sup>4,9-17</sup>

Tabel. Patogenisitas *Mycobacteria*

Spesies	Manusia	Marmut	Unggas	Sapi
<i>M. tuberculosis</i>	+++	+++	-	-
<i>M. bovis</i>	+++	+++	-	+++
<i>M. kansasii</i>	+++	-	-	-
<i>M. avium-intracellulare</i>	+	-	+++	-
<i>M. fortuitum-chelonae</i>	+	-	-	-
<i>M. leprae</i>	++	-	-	-

Tabel. Organisma dan penyakit yang ditimbulkan

Organisma	Penyakit
<i>M. tuberculosis</i>	Tuberkulosis
<i>M. bovis</i>	Tuberkulosis bovin (mungkin juga pada manusia)
<i>M. leprae</i>	Leprosi atau lepra
<i>M. avium</i>	Infeksi oportunistik pada penderita AIDS
<i>M. intracellulare</i>	Seperti <i>M. Avium</i>
<i>M. fortuitum</i>	Infeksi oportunistik melalui lesi
<i>M. chelonae</i>	Seperti <i>M. Fortuitum</i>
<i>M. kansasii</i>	Infeksi pada paru
<i>M. simiae</i>	Infeksi pada paru, tulang, ginjal
<i>M. ulcerans</i>	Infeksi kulit
<i>M. xenopi</i>	Infeksi paru
<i>M. scrofulaceum</i>	Adenitis servikal pada anak-anak.
<i>M. marinum</i>	Infeksi pada kulit dan lain-lain
<i>M. szulgai</i>	Infeksi paru, tulang dan ginjal
<i>M. paratuberculosis</i>	Penyakit Chrohn's (diduga)

## Struktur atau unsur-unsur dinding sel

Pada dasarnya dinding sel *Mycobacteria* terdiri dari dua lapis yakni bagian luar dan bagian dalam. Dinding sel *Mycobacteria* dapat merangsang hipersensitivitas jenis lambat dan merangsang suatu kekebalan terhadap infeksi. Pada percobaan **Adjuvant Freund**, isi sel dikeluarkan, yang tinggal hanya dinding sel. Kemudian isi sel disuntikkan pada hewan percobaan yang telah disensitasi sebelumnya. Dari hasil percobaan didapatkan terjadi reaksi hipersensitivitas jenis lambat.<sup>4-10,13</sup> Unsur-unsur yang menyusun dinding sel adalah lipid, protein dan polisakarida.<sup>3-19</sup>

### Lipid

Bagian luar dari dinding sel BTA tersusun dari lapisan lipid tebal. Kandungan lipid dari dinding sel mencakup kira-kira 60% dari seluruh komponen dinding sel. Unsur lipid dari dinding sel tersebut, sebagian besar terikat pada protein dan polisakarida. Tingginya kandungan lipid pada dinding sel membuat organisme ini tahan asam. Selain itu, unsur lipid pada dinding sel menyebabkan daya tahan mikroorganisme terhadap zat bakterisidal, daya tahan terhadap zat yang terdapat dalam sel makrofag bila organisme tersebut

difagosit oleh makrofag. Peran lain dari lipid dinding sel BTA adalah dalam sifat virulensi organisme.

Lapisan luar berikatan dengan lapisan dalam (peptidoglikan) melalui asam mikolat dan arabinogalaktan. Peptidoglikan merupakan polimer kompleks yang terdiri dari *N-acetyl glucosamine* dan *N-acetylmuramic acid*. Selain itu terdapat lipoarabinomanan yang tertanam pada lapisan membran sebelah dalam dan gugus polisakaridanya menjulur ke luar melewati lapisan peptidoglikan.<sup>4,5,10,13,16</sup>

Kompleks lipid dinding sel dapat dibedakan dalam beberapa jenis:

1. Asam lemak rantai panjang (C78 - C90) yang disebut **asam mikolat**. Hanya terdapat pada *Mycobacteria*, asam mikolat berupa kompleks yang terdiri dari *mycosides-waxes-D*, *trehaloses-6*, *6'-dimycolate* dan sulfolipid. Kompleks asam mikolat bertanggung jawab akan sifat tahan asam organisme, berperan dalam terbentuknya granuloma dan diduga berperan dalam menghambat proses fagositosis.
2. **wax D**, digunakan pada hewan percobaan untuk meningkatkan respons imun terhadap banyak antigen dan
3. **Fosfatida**, fraksi fosfatida dari sel berperan dalam menghasilkan respons seluler yang menyerupai tuberkel dan nekrosis kaseosa/perkijuan. Strain virulen membentuk **serpentin** dan **faktor cord** (Adanya factor cord menyebabkan BTA tersusun dalam rantai pendek secara mikroskopik). Faktor Cord yang dikaitkan dengan kemampuan strain virulent menyebabkan penyakit adalah *trehalosa-6,6'-dimycolate*, juga berperan dalam menghambat migrasi lekosit, menyebabkan granuloma menahun dan sebagai suatu adjuvant imunologik, mengaktifasi jalur komplemen alternative, bersifat toksik yang mematikan pada tikus yang dikaitkan dengan kerusakan membran mitokondria.

Secara umum komponen lipid dinding sel bertanggung jawab atas reaksi seluler jaringan terhadap basil tuberkel, sifat tahan asam sel bakteri, daya tahan terhadap bahan bakterisid.

Komponen lipid dinding sel juga bertanggung jawab akan daya tahan terhadap zat yang terdapat dalam sel fagosit, proses fagositosis oleh makrofag, bertanggung jawab atas terjadinya nekrosis kaseosa atau perkijuan dan sifat virulensi mikroorganisme.<sup>4-9,13-17</sup>

## Protein

Unsur protein dinding sel bakteri bertanggung jawab akan sifat antigenik mikroorganisme. Kandungan protein dari sel bakteri mengakibatkan atau bertanggung jawab pada reaksi tuberkulin. Protein yang terikat dengan lilin berperan atau menimbulkan pembentukan berbagai antibodi bila organisme ini masuk ke dalam tubuh.<sup>2-5,13-17</sup>

## Polisakarida

Polisakarida dinding sel bakteri menyebabkan atau bertanggung jawab atas terjadinya reaksi hipersensitivitas tipe cepat, juga bertanggungjawab akan sifat antigenik sel bakteri. Komponen polisakarida dinding sel juga dapat mengganggu atau menyebabkan beberapa reaksi silang pada reaksi antigen-antibodi In-vitro.<sup>4-6,13</sup>

## Sumber infeksi

Sumber infeksi adalah tempat dari mana mikroorganisma patogen secara langsung kontak dengan korban atau manusia. Sumber infeksi dapat dibedakan dalam dua bentuk yaitu sumber infeksi primer dan sumber infeksi sekunder. Sumber infeksi **primer** adalah manusia dan hewan pengidap mikroorganisma patogen dan lingkungan di mana mikroorganisma berada. Sedang sumber infeksi **sekunder** adalah orang, benda atau alat yang terkontaminasi dengan mikroorganisma patogen.

Manusia yang menjadi sumber infeksi adalah manusia yang sakit atau manusia pembawa bibit penyakit (**carrier**). Mikroorganisma pathogen dari orang sakit umumnya dikeluarkan dari saluran pernafasan. Oleh karena itu penyebaran ke individu lain terjadi melalui droplet pernafasan.

Ditinjau dari aspek sipenderita, sumber infeksi dapat dibedakan dalam dua bentuk yakni **endogen** dan **eksogen**. Sumber infeksi endogen adalah bakteri yang berada dalam keadaan dorman dari penderita sendiri, sedang yang eksogen, mikroorganisma yang berasal dari luar penderita.

Tabel. Sumber dan penularan *Mycobacterium tuberculosis*.

Hal	Uraian
Reservoir, sumber dan penularan	Reservoir/sumber umumnya manusia, Sekret saluran napas dari penderita lesi aktif terbuka disebarkan melalui droplet pernafasan saat batuk, bersin
Masa inkubasi	Sejak masuk sampai timbul lesi primer umumnya memerlukan waktu 4 – 6 minggu. Interval antara infeksi primer dan reinfeksi bisa beberapa tahun
Masa dapat menular	Selama yang bersangkutan mengeluarkan basil tuberkel, terutama yang dibatukkan atau dibersinkan.
Imunitas	Anak di bawah 3 tahun paling rentan, karenanya sejak lahir sampai satu bulan bayi diberi vaksinasi BCG yang menaikkan ketahanan tubuh terhadap tuberkulosis.

Manusia atau hewan yang menjadi sumber infeksi adalah penderita tersangka TB dengan: 1). Batuk aktif dan dahak secara mikroskopis BTA positif; 2). Penderita dengan batuk aktif dengan kaverna; 3). Penderita batuk aktif yang memiliki dahak secara mikroskopis negatif tetapi dengan biakan positif; 4). Susu yang mengandung *M. bovis*. Penderita dengan preparat apus BTA positif, 4 – 5 kali lebih infeksius dibanding penderita dengan preparat apus BTA negatif tetapi kultur positif.<sup>18-35</sup>

Penderita TB sekali batuk atau berbicara selama 5 menit dapat menghasilkan kira-kira 3000 *droplet nuclei*, kalau bersin lebih banyak lagi. Namun belum diketahui berapa jumlah BTA tiap *droplet nuclei*.<sup>9-20</sup>

## Penularan penyakit tuberculosis

Ada beberapa macam penyebaran kuman untuk berpindah dari pejamu yang satu ke pejamu yang lain, atau keluar dari pejamu untuk menginfeksi pejamu lain yang rentan, seperti manusia atau hewan. Penyebaran bisa terjadi dari orang ke orang, dari hewan ke orang dan dari bahan atau benda ke orang. Secara umum penularan penyakit dapat dikelompokkan dalam dua jenis yakni secara langsung dan tidak langsung.

Penularan langsung atau disebut juga penularan orang ke orang adalah perpindahan mikroorganisme secara langsung dan segera dari pejamu pengidap BTA ke pejamu yang rentan. Penularan secara langsung terjadi bila penyebab infeksi langsung ditularkan dari **sumber infeksi ke penderita** yang sebelumnya tidak menderita penyakit tersebut. Penularan langsung bisa terjadi dengan beberapa cara, antara lain dengan *Droplet infection* atau inhalasi. Tetesan (droplet) ludah atau tetesan secret saluran pernapasan dihasilkan pada saat batuk, bersin atau saat berbicara.

Penularan secara tidak langsung terjadi bila mikroorganisme penyebab penyakit berpindah atau terbawa melalui perantara seperti makhluk hidup (vector biologis), benda-benda / alat-alat mati (fomite). Alat penularan penyakit tidak langsung antara lain, udara yang beredar, partikel debu, droplet, air, minuman, makanan, kontak oral-fekal, alat diagnostic, via pengobatan, dan mekanisme lain yang secara efektif menyebarkan organisme penyebab penyakit ke pejamu yang rentan.

Secara garis besar *M. tuberculosis* dapat ditularkan melalui lima cara: 1). Melalui saluran pernapasan dengan menghisap droplet berukuran 1-10 mikron yang mengandung *M. tuberculosis* hidup, 2). Inokulasi langsung pada kulit yang mengalami aberasi, 3). Melalui konjungtiva, 4). Saluran urinarius-genital, dan 5). Melalui saluran pencernaan.<sup>19-31</sup>

Penularan kuman *M. tuberculosis* terjadi dari penderita ke orang lain terutama melalui droplet saluran pernafasan. *Droplet nuclei* yang berada di udara ruangan untuk waktu yang lama tetap berbahaya karena *M. tuberculosis* tetap viable dalam beberapa jam jika tidak kena cahaya matahari langsung atau sinar ultraviolet. Oleh karena itu bila terhirup *droplet nuclei* yang mengandung *M. Tuberculosis* hidup, maka akan terjadi infeksi.

Seseorang terinfeksi tergantung pada: 1). Daya tahan atau sistem imun tubuh individu, 2). Kuantitas *droplet nuclei* yang terhisap atau jumlah mikroorganisme dan 3). Durasi (lamanya) kontak dengan penderita. Sampai saat ini belum diketahui berapa dosis infeksius minimum untuk terjadinya infeksi. Diduga satu atau dua organisme hidup yang terhisap masuk alveoli sudah dapat menyebabkan infeksi.<sup>18,22,30-36</sup>

## Patogenesis penyakit tuberkulosis

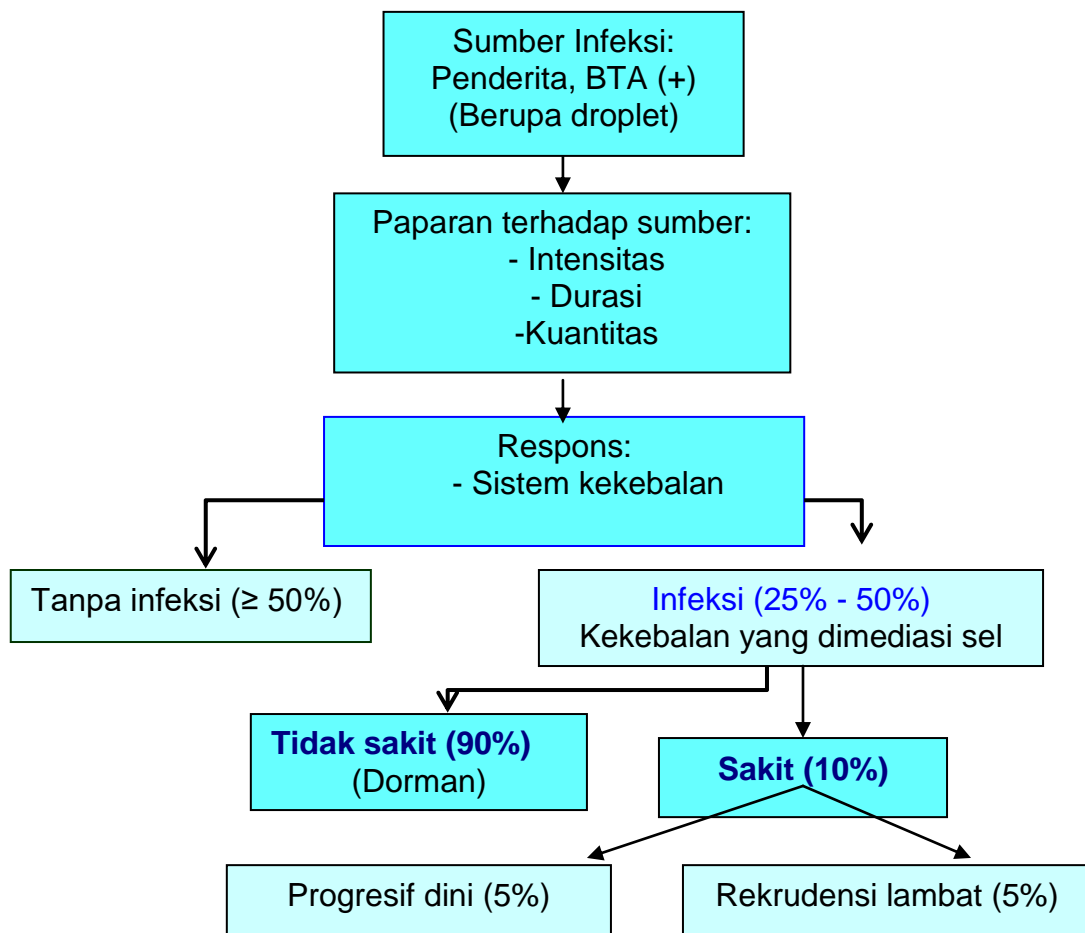
Infeksi tuberkulosis primer terjadi bila *droplet nuclei*, diameter 1 – 5  $\mu\text{m}$  yang mengandung *M. tuberculosis* hidup terhirup dan mencapai alveoli paru individu yang peka. Masa inkubasi penyakit TB antara 4 – 12 minggu. Organisme dalam partikel sebagian besar akan mati atau dibersihkan oleh makrofag dan dikeluarkan dari trakheo-bronkhial oleh gerakan silia saluran pernafasan. Seseorang yang terpajan *Mycobacteria*, bila system imunnya baik, 50% atau lebih **tidak akan terjadi infeksi**, hanya sekitar 25% -  $\leq 50\%$  yang menyebabkan infeksi. Dari kasus yang mengalami infeksi, bakteri akan dihancurkan sistim imun. Pada sebagian besar kasus yang terinfeksi, 90% asimtomatik dan 10% dengan gejala atau sakit. Orang terinfeksi namun tanpa gejala, hal ini karena respons imun, khususnya sistim pertahanan seluler dapat menghancurkan atau menghentikan multiplikasi basil. Pada keadaan dimana sistim imun tidak dapat menghancurkan basil, namun hanya dapat menghentikan multiplikasi, maka basil berada dalam keadaan dorman (tidak aktif secara metabolik). Dari yang 10% dengan gejala, 5% muncul dalam 5 tahun setelah infeksi dan 5%-nya lagi muncul setelah beberapa dekade (rekrudensi lambat).<sup>18,25,27-29,36-38</sup> Terhadap basil yang tidak dapat dihancurkan atau disingkirkan oleh sistim imun tubuh, maka ada dua kemungkinan:<sup>11-15, 32-40</sup>

1). Beberapa mikroorganisme **bertahan dalam keadaan laten** atau **dorman**. Pada keadaan laten atau dorman kuman tidak bermultiplikasi atau berada dalam status quo/tidur (tidak aktif secara metabolik). Pada keadaan demikian tidak timbul gejala, tetapi akan mengalami reaktivasi dikemudian hari jika respons imun melemah, misal penderita mendapat terapi kortikosteroid, mengidap HIV. 2). Sebagian kecil mikroorganisme **berproliferasi** dalam sitoplasma sel fagosit (makrofag). Hal demikian terjadi jika sistim pertahanan tubuh atau respons imun tidak cukup baik atau tidak kuat. Proliferasi mikroorganisme menyebabkan reaksi inflamasi lokal yang disebut **tuberkulosis primer (TB-primer) atau sarang primer**. Sarang primer ini terjadi dibagian mana saja dari paru. Lesi primer adalah lesi yang terjadi pertama kali, biasanya terjadi pada anak-anak, umumnya tanpa gejala, namun pada keadaan sistem imun anak tidak baik akan terjadi radang paru atau pneumonia TB.<sup>15,17,24</sup>

Sel makrofag yang berisi basil yang bermultiplikasi dapat bermigrasi ke nodus limfe trakeobronkial regional, lalu masuk aliran limfe dan darah, kemudian dibawa kembali ke paru (terutama pada apeks paru) dan organ-organ lain seperti nodus limfe, ginjal, daerah epifise tulang panjang, corpus vertebra, meninges. Selama proses ini bakteri terus memperbanyak diri sampai diaktifkannya respons imun seluler 3 – 10 minggu setelah TB primer.

Beberapa minggu setelah terpapar dapat terjadi inflamasi pembuluh limfe ke arah Hilus, disebut **limfangitis lokal**, kemudian mikroorganisme menyebar ke kelenjar getah bening hilus (nodus limfe Hilus) dan menyebabkan peradangan, disebut **limfadenitis regional / hilus**. Gabungan dari sarang primer, limfangitis lokal dan limfadenitis regional disebut **Ghon Complex from Ranke**.<sup>15,17-19</sup>





Gambar. Algoritma Infeksi *M. tuberculosis*.

Mikroorganisme dari kompleks primer dapat menyebar perkontinuitatum (menyebar ke sekitarnya), menyebar secara bronkogen pada paru bersangkutan atau pada paru di sebelahnya atau mikroorganisme tertelan bersama dahak dan menyebar ke usus atau masuk ke dalam sirkulasi dan menyebar ke seluruh tubuh. Dalam waktu 3 - 10 minggu setelah infeksi primer, respons imun terbentuk berupa hipersensitivitas tipe lambat dan imunitas seluler dimana terjadi sensitasi limfosit T yang selanjutnya melepaskan mediator atau limfokin.<sup>15</sup>

Sel-T imunokompeten atau Sel-T teraktivasi, bermigrasi dari nodus limfe regional ke lokasi (dekat) infeksi di paru, lalu sel ini membebaskan bahan kemotaktik, *migrationinhibitory*, sitokin mitogenik. Bahan-bahan ini menstimulasi rekrutmen limfosit dan monosit, devisi limfosit dan makrofag dan aktivasi makrofag. Lalu makrofag yang telah teraktivasi menghasilkan interleukin-1 (IL-1), interferon (IF) dan TNF (*Tumor necrosis factor*). Bahan-bahan ini kemudian menstimulasi atau mengatur komponen lain dari sistem imun. Selain itu monosit mulai bermigrasi ke daerah infeksi dan makrofag memperlihatkan peningkatan kemampuan memfagositosis dan membunuh organisme intraseluler. Selanjutnya kerja respons imun dapat menghentikan, membatasi

atau mengurangi multiplikasi *Mycobacteria* dalam lesi primer atau dalam fokus-fokus metastatik.

Perkembangan sarang primer/TB-primer lebih lanjut tergantung pada **jumlah** mikroorganisma, **virulensi** mikroorganisma dan **daya tahan** tuan rumah atau respons imun. Aksi respons imun khususnya respons imun seluler sangat menentukan nasib perkembangan lesi primer lebih lanjut.<sup>15,18,24,40</sup>

1. Lesi primer sembuh tanpa cacat.  
Pada sebagian besar kasus (90%), respons imun menghentikan multiplikasi basil, lesi diresorpsi lengkap. Pada keadaan demikian penderita tanpa gejala atau tidak sakit, bukti bahwa penderita pernah terinfeksi *M. tuberculosis* adalah **uji tuberkulin positif** dan mungkin kompleks primer dapat terlihat pada foto toraks.
2. Lesi sembuh dengan fibrotik atau kalsifikasi.  
Pada lesi yang mengalami resorpsi menyisakan jaringan fibrotik dan terjadi kalsifikasi, sehingga pada pemeriksaan foto toraks akan tampak berupa garis-garis fibrotic atau bercak kalsifikasi di daerah hilus. Penderita tidak disertai gejala, bukti bahwa penderita pernah terinfeksi *M.tuberculosis* adalah uji tuberculin positif.
3. Lesi dalam keadaan dorman.  
Pada beberapa kasus, respons imun tidak dapat menghancurkan basil, namun basil tidak dapat bermultiplikasi hanya bertahan dalam keadaan dorman (tidur). Jika daya tahan tubuh menurun, maka basil yang berada dalam keadaan dorman ini akan aktif (reaktivasi) dan timbul gejala TB pasca primer.
4. Pada sebagian kecil kasus, respons imunnya tidak cukup kuat sehingga tidak dapat mencegah multiplikasi basil, akibatnya penyakit terjadi atau manifest dalam beberapa bulan kemudian.
5. Terjadi reaksi hipersensitivitas berupa eritema nodosum, konjungtivitis flektenularis, dan daktilitis
6. Lesi mengalami granuloma, lalu granuloma meluas dan bagian tengah mengalami nekrosis kaseosa atau perkijuan. Jika bagian nekrosis ini dibatukkan akan terjadi kavitasi.
7. Terjadi komplikasi pulmoner dan pleura, menyebabkan tuberkulosis pneumonia, emfisema obstruktif, efusi pleura, dan bronkiektasis.
8. Mikroorganisme dari kompleks primer mengalami hal berikut:
  - Menyebar perkontinuitatum atau menyebar ke sekitarnya
  - Menyebar secara bronkogen pada paru bersangkutan atau pada paru di sebelahnya
  - Mikroorganisme tertelan bersama dahak dan menyebar ke usus
  - Mikroorganisme masuk ke dalam sirkulasi dan menyebar ke seluruh tubuh (disseminata) antara lain, menyebar ke kelenjar getah bening (biasanya menyebabkan limfadenopati servikal), otak (meningitis), jantung (perikarditis), tulang (osteomielitis,koksitis), ginjal, usus, persendian dan TB milier.

Tuberkulosis paru **pasca primer** adalah penyakit TB yang terjadi setelah periode masa laten bulanan atau tahunan dari infeksi primer. Hal ini biasanya terjadi karena reaktivasi atau reinfeksi.

Pada reaktivasi, kuman *M. tuberculosis* yang dorman dalam jaringan setelah infeksi primer mulai memperbanyak diri, Peristiwa ini terjadi karena

melemahnya daya tahan tubuh, misalnya karena penyakit atau terjadi immunosupresi karena obat-obatan.

Pada reinfeksi, terjadi infeksi lagi pada individu yang telah mengalami infeksi TB primer. TB pasca primer biasanya terjadi pada regio atas paru berupa lesi mulai dari infiltrat kecil sampai kavitas.

Dalam waktu 3 - 10 minggu, lesi dini berkembang menjadi tuberkel yakni suatu granuloma yang terdiri dari sel-sel histiosit dan sel Daria yang dikelilingi oleh limfosit dan jaringan ikat. Granuloma bisa meluas dan bagian tengah mengalami nekrosis dan kemudian perkijuan. Jika bagian perkijuan dibatukkan akan terjadi kavitas. Kuman *M. tuberculosis* pasca primer juga dapat menyebar ke bagian organ seperti pleura, kelenjar getah bening, otak, jantung, saluran cerna, ginjal, tulang dan persendian.<sup>10,15,21</sup>

## Patologi

Pembentukan dan perkembangan lesi serta penyembuhannya ditentukan oleh besarnya jumlah mikroorganisma dalam inokulum dan perkembangbiakan selanjutnya, resistensi dan hipersensitivitas hospes. Pada infeksi dapat ditemukan dua jenis lesi utama, tipe eksudatif dan tipe produktif.

Organisma pada lesi tipe eksudatif dapat menyebar ke kelenjar getah bening dan masuk aliran darah lalu ke organ-organ. **Lesi tipe eksudatif** merupakan reaksi peradangan akut terutama pada paru-paru. Jenis lesi ini bisa sembuh dengan resolusi (eksudat diabsorpsi), namun bisa pula berkembang menjadi nekrosis massif. Lesi eksudatif dapat berkembang jadi lesi produktif, pada fase ini **uji tuberkulin positif**.

**Lesi tipe produktif** jika berkembang maksimal akan menyebabkan granuloma menahun. Granuloma ini terdiri dari 3 daerah yakni: 1). Daerah sentral yang luas, daerah nekrosis kaseosa, mengandung giant cell; 2). Daerah tengah, terdiri dari sel epiteloid; 3). Daerah perifer, terdiri dari fibroblas, limfosit dan monosit. Ketiga daerah ini secara bersama-sama disebut tuberkel atau tuberkel kaseosa. Organisma dalam tuberkel dapat masuk aliran darah, lalu terjadi penyebaran milier atau TB milier, selanjutnya organisma dapat mengenai organ-organ. Jika tuberkel kaseosa pecah dapat masuk ke dalam bronkus, lalu tertelan, masuk ke usus dan dapat menyebabkan TB-usus. Akibat tuberkel yang pecah, pada paru akan terjadi kaverna atau kavitas; dalam perjalanan penyakit, kaverna dapat sembuh dengan kalsifikasi atau fibrosis.<sup>9,10,15,16,21</sup>

## Gambaran klinik TB paru

### Gambaran Umum<sup>29-32</sup>

*M. tuberculosis* pada manusia umumnya menginfeksi organ paru dan sebagian kecil menginfeksi organ bukan paru. Bila menginfeksi organ paru pada individu yang peka akan menyebabkan Tuberkulosis paru (TBP) dan bila menginfeksi di luar paru, bisa menyebabkan TB-ekstrapulmoner. Infeksi yang

terjadi di luar paru antara lain *adenitis tuberculosis*, efusi pleura, infeksi traktus urinarius, peritonitis, infeksi tulang dan persendian dan meningitis.

Gejala umum yang timbul pada pasien TB paru adalah batuk berdahak yang berlangsung selama 2-3 minggu atau lebih, lemah, cepat lelah, berat badan berkurang walaupun volume makanan tidak berkurang, malaise, anoreksia, demam meriang lebih dari satu bulan, berkeringat malam hari tanpa aktivitas fisik.

Batuk merupakan gejala respiratorik yang paling sering, pada awal penyakit batuk tanpa disertai dahak, tetapi selanjutnya mengeluarkan dahak kental. Hemoptisis (batuk darah) bisa terjadi jika pembuluh darah pada kavitas pecah. Jika ada sakit dada waktu bernafas dalam, kemungkinan karena sudah terjadi pleuritis. Sesak nafas timbul jika telah terjadi kerusakan luas pada jaringan paru yang menyebabkan penurunan fungsi paru atau terjadi efusi pleura massif. Gejala seperti yang disebut di atas juga dijumpai pada penyakit paru non-TB, antara lain bronkiektasis, bronkitis kronis, asma, kanker paru.

Gejala umum penyakit TB pada anak antara lain, berat badan turun dalam 3 bulan terakhir tanpa penyebab yang jelas dan tidak naik dalam waktu satu bulan meskipun telah diberi diit yang baik. Tidak ada nafsu makan (anorexia), demam lama atau demam berulang tanpa sebab yang jelas, kadang disertai keringat malam. Ada pembesaran kelenjar getah bening superfisial multipel, paling sering didaerah leher, ketiak dan lipatan paha (inguinal), tidak sakit. Gejala saluran nafas berupa batuk lama lebih dari 30 hari, kemungkinan ada tanda cairan di dada dan nyeri dada. Gejala saluran cerna berupa diare, benjolan (massa) di abdomen dan tanda-tanda cairan di abdomen. Gejala spesifik lain pada TB anak antara lain skrofuloderma (TB kulit), kelainan pada tulang (spondilitis, gibbus, koksitis), kelainan pada mata (konjungtivitis fliktenularis, tuberkel koroid).

### **Gambaran radiologik**

Gambaran radiologik TB paru tidak khas, namun beberapa gambaran radiologik dapat sangat membantu dalam menegakkan diagnosis TB paru. Lokasi lesi TB terutama di daerah apeks (segmen apikal lobus atas atau segmen apikal lobus bawah) atau dapat terjadi pada lobus bawah bagian inferior atau didaerah hilus. Lesi pada hilus bisa menyerupai tumor paru. Pada awal penyakit gambaran radiologi lesi berupa bercak-bercak seperti awan dengan batas tidak jelas. Pada proses lebih lanjut gambarannya berupa bercak-bercak lebih padat dan batas lebih jelas.

Gambaran radiologi kavitas berupa cincin, bila terjadi sklerosis pada kavitas gambaran cincin akan menebal dan jika terjadi fibrosis akan tampak gambar bayangan bergaris-garis .

Gambaran radiologi TB milier berupa bercak-bercak halus yang tersebar merata pada seluruh lapangan paru .

Gambaran radiologi lain yang dapat ditemukan pada penderita TB paru antara lain gambaran penebalan pleura (pleuritis), gambaran massa cairan di bagian bawah paru (efusi pleura/empiema) atau gambaran bayangan hitam radiolusen di pinggir paru/pleura pada kasus pneumotoraks.<sup>33-37</sup>

## Gambaran laboratorium

Pemeriksaan laboratorium yang dilakukan meliputi pemeriksaan hematologi, bakteriologi (secara langsung atau dengan biakan), pemeriksaan imunologi uji tuberkulin, pemeriksaan serologi, pemeriksaan dengan bantuan *Polymerase Chain Reaction (PCR)* dan pemeriksaan fenoma sekunder karena proses penyakit.<sup>38-41</sup>

Pada penderita tuberkulosis paru, perubahan hematologi yang dapat ditemukan antara lain anemia dengan *mean corpuscular volume (MCV)* yang normal dan peningkatan nilai laju endap darah. Pada pemeriksaan apus darah tepi, penderita TB kronik, dapat menunjukkan anemia ringan normokrom normositer. Jumlah leukosit biasanya normal, pada penyakit yang lanjut dapat terjadi pergeseran ke kiri. Pada pemeriksaan serum didapatkan kadar besi menurun dan kadar *C-reactive protein* meningkat, alfa-2 globulin dan gamma globulin juga meningkat.<sup>42</sup>

Pada TB renal dapat terjadi piuria tanpa bakteri. Pada penderita TB yang belum diobati enzim transaminase dan alkalifosfatase dapat meningkat.

Untuk mendeteksi organisme penyebab atau komponen-komponennya antara lain dengan pemeriksaan mikroskopis yang diwarnai dengan Ziehl-Neelsen atau Auramin-O. Pemeriksaan kultur bisa dilakukan pada media Lowenstein Jensen, Kudoh atau Ogawa. Teknik pembiakan dengan metode baru dibanding dengan cara konvensional seperti yang disebutkan di atas adalah dengan sistem BACTEC 460-TB semi otomatis merupakan sistem kultur radiometrik. Sekarang telah ada sistem kultur non-radiometrik, antara lain MB/BacT, MB Redox, dan *Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT)*. Dengan cara non-radiometrik telah dapat diperoleh hasil positif dalam waktu 6 – 7 hari.<sup>43,44</sup>

Komponen dinding sel bakteri (misal *Mycolic acid, Tuberculostearic acid*) dapat dideteksi antara lain dengan cara *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*, *GLC (Gas Liquid Chromatography)* atau Mass spektrofotometri, metode ini tidak spesifik dan mahal.<sup>45</sup>

Antigen *Mycobacterium tuberculosis* dideteksi dengan reaksi antigen-antibodi misal dengan ELISA (*Enzyme linked immunosorbent assay*). Sayangnya, metode ini mahal dan terbukti tidak cukup sensitif untuk pemakaian rutin.<sup>46,47</sup>

Respons imun spesifik terhadap organisme penyebab dapat diperiksa dengan uji tuberkulin, histopatologi. Pemeriksaan serologi untuk mendeteksi antibodi spesifik dapat diperiksa misal dengan Peroksidase Anti Peroksida (PAP-TB), *Mycodot* (menggunakan Ag Lipoarabinomannan, LAM), Hexagon-TB, Pathozyme (ELISA), ICT-TB dan pemeriksaan imunitas seluler in-vitro.<sup>48,49</sup>

Sekuens DNA atau RNA spesifik dari bakteri dapat dideteksi dengan metoda PCR (*Polymerase Chain Reaction*). *Specific DNA probe* yang ditujukan untuk ribosomal RNA, hanya sensitif untuk mendeteksi organisme pada biakan positif.<sup>41,50,51</sup>

Pemeriksaan yang didahului dengan amplifikasi asam nukleat, misal dengan PCR, memperpendek waktu diagnosis menjadi 4–6 jam, sedang spesifitasnya sekitar 98%. Untuk preparat positif sensitivitas uji ini 95%, untuk preparat negatif sensitivitasnya 60%. Positif palsu dapat terjadi karena kontaminasi dari alat; sedang negatif palsu dapat terjadi karena inhibitor *Taq*

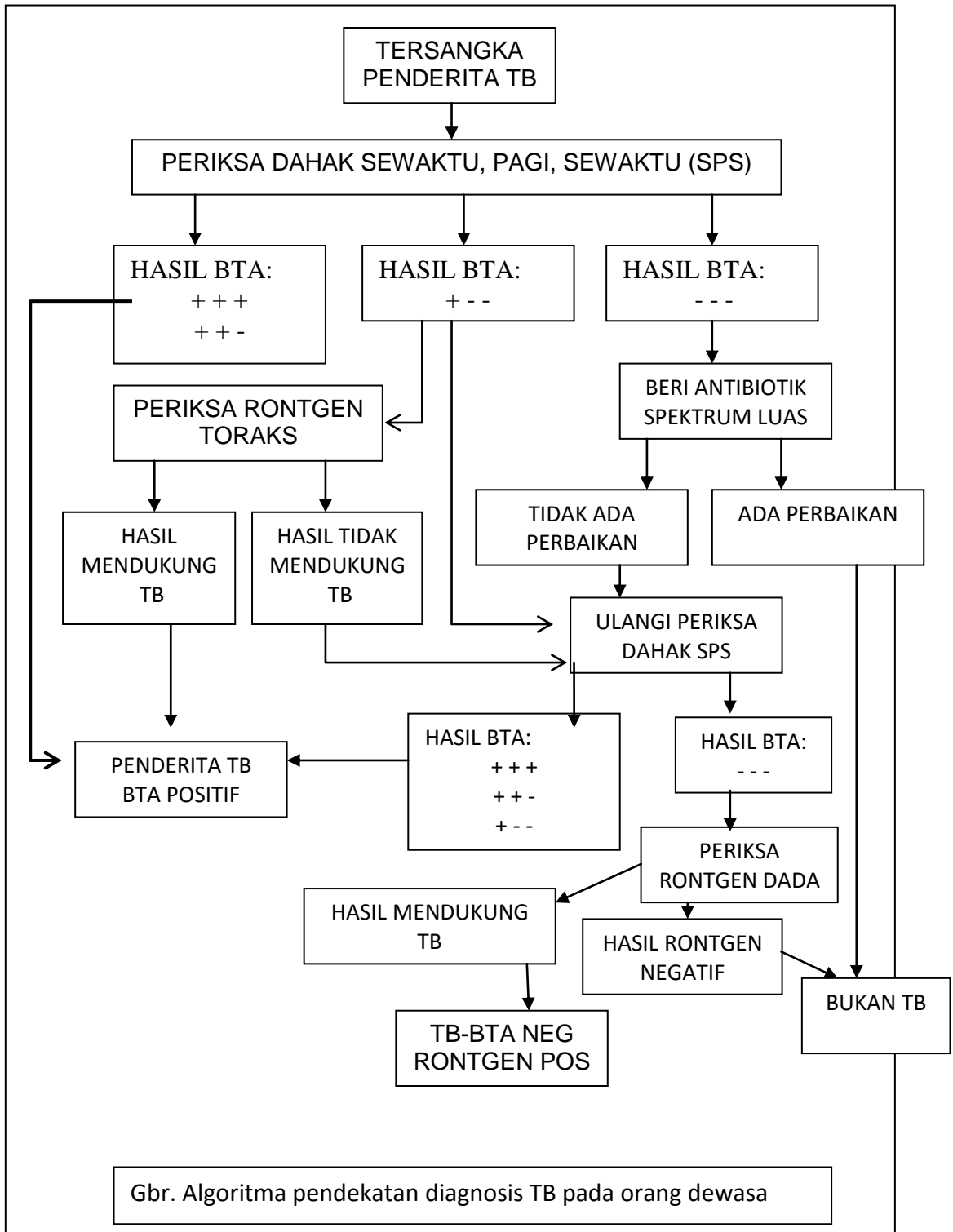
*Polymerase* terdeteksi oleh kontrol internal. Dengan cara ini kuman yang matipun akan terdeteksi.<sup>14,39</sup>

Untuk mendeteksi fenomena sekunder yang disebabkan oleh proses penyakit tersebut adalah dengan melakukan pemeriksaan hematologi dan atau pemeriksaan enzim adenosin deaminase dalam cairan pleura, peritonium dan cairan serebrospinal. Peningkatan enzim menunjukkan adanya peningkatan aktivitas limfosit. Pada penderita TB terjadi peningkatan aktivitas limfosit oleh karena itu adenosine deaminase meningkat.<sup>11,16,42</sup>

## **Diagnosis**

### **Diagnosis TB-Paru pada orang dewasa**

Pada orang dewasa diagnosis TB relative tidak sulit seperti halnya pada anak-anak atau bayi. Secara umum diagnosis pasti TB paru dibuat atas dasar ditemukannya *M. tuberculosis* secara mikroskopis atau biakan atau ditemukannya komponen *M. tuberculosis* dari penderita. Bila diagnosis didasarkan pada penemuan BTA dari dahak (sputum) secara mikroskopis, maka harus ditemukan BTA (BTA positif) pada dua dari tiga bahan sputum SPS (sewaktu, pagi, sewaktu). Bila hanya satu sputum yang positif BTA dari sputum SPS, maka perlu diulang pemeriksaan sputum SPS dan pemeriksaan lain misalnya foto toraks. Jika hasil foto toraks menunjukkan gambaran TB, dan sesuai menurut pertimbangan dokter, maka penderita didiagnosis sebagai penderita TB (Lihat algoritma di bawah) Bila penemuan BTA dalam sputum didasarkan pada pembiakan, maka diagnosis bisa ditegakkan bila hasil biakan positif *M. tuberculosis*. Namun, diagnosis dengan kedua cara di atas tidak bisa mencakup semua kasus. Oleh karena itu untuk kasus lain, diagnosis TB dibuat atas dasar gabungan dari gambaran klinik, gambaran radiologik, dan atau pemeriksaan lain seperti mendeteksi respons imun, pemeriksaan hematologi, kadang-kadang dengan pemeriksaan histologi.<sup>52</sup>



## Diagnosis TB-Paru pada anak

Diagnosis TB pada bayi dan anak sampai saat ini masih sulit dilakukan TB pada anak kebanyakan TB ekstraparu (kelenjar limfe di hilus dan sebagainya) oleh karena itu jarang sekali ada BTA yang masuk ke sekret bronki. Kalaupun ada BTA yang masuk sputum, bayi dan anak pra-sekolah biasanya menelan sputum tersebut. Untuk mendapatkan BTA perlu dilakukan prasat untuk mengambil cairan lambung yang sulit (hanya bisa di rumah sakit) dan menyakitkan. Oleh karena itu, untuk diagnosis TB pada anak umumnya didasarkan pada gambaran klinis, gambaran rontgen dada dan uji tuberculin, namun pendekatan demikian tidak selalu memuaskan.

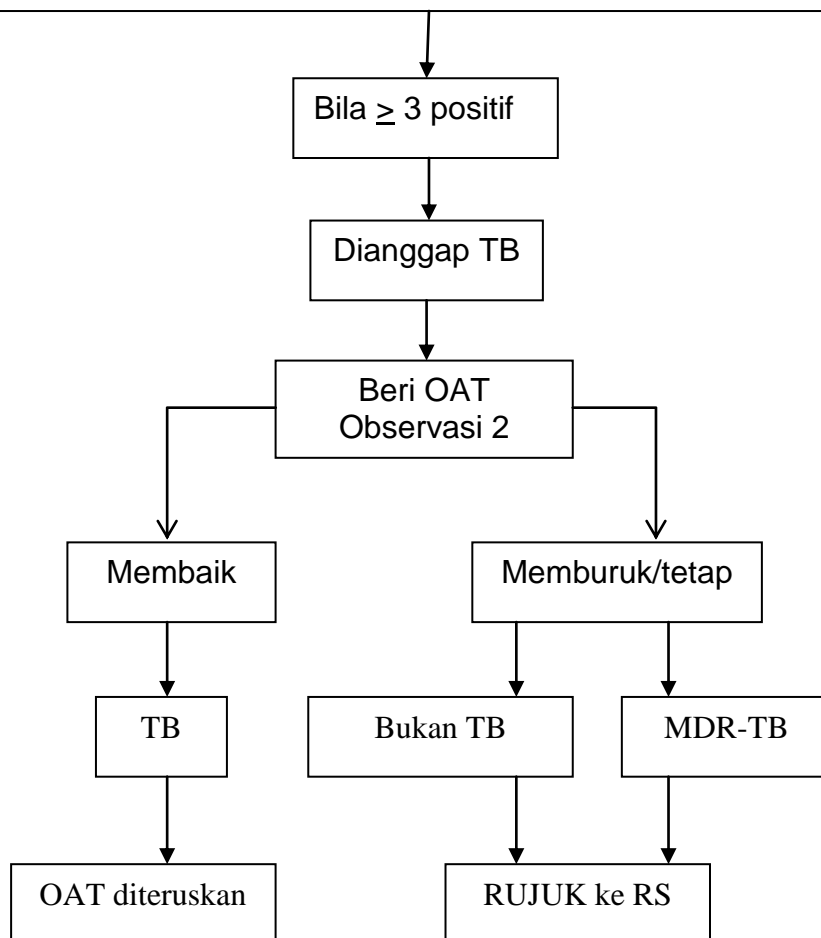
Untuk mengatasi kesulitan dalam mendiagnosis TB pada anak, maka IDAI (Ikatan Dokter Anak Indonesia) menyusun konsensus dengan alur sebagai berikut:

1. Ada kontak erat dengan penderita BTA positif (+) dan atau pada imunisasi BCG terjadi reaksi kemerahan cepat dalam waktu 3-7 hari, dan atau ada gejala klinis TB, maka **curiga TB**
2. Bila ditemukan **2 atau lebih** gejala berikut yakni:
  - a. Gejala klinis umum
    - i. Berat badan turun tanpa sebab yang jelas
    - ii. Demam lama atau berulang tanpa sebab yang jelas
    - iii. Batuk lebih dari 3 minggu
  - b. Gejala klinis spesifik, seperti:
    - i. Skrofuloderma
    - ii. Pembesaran kelenjar superfisialis, biasa pada leher
    - iii. Konjungtivitis fliktenularis
  - c. Kontak dengan penderita BTA positif (+)
  - d. Uji tuberculin (+) atau reaksi cepat BCG
  - e. Foto RO (+),  
Maka dianggap TB, **berikan OAT**
    - a. Observasi selama 2 bulan (selama diberi OAT)  
Jika membaik, **berarti TB, terapi OAT diteruskan**
    - b. Jika memburuk atau tetap, berarti bukan TB atau mungkin MDR-TB (*Multi drugs resistance tuberculosis*) dan selanjutnya dirujuk ke RS.
3. Di RS akan dilakukan:
  - a. Pendataan gejala klinis
  - b. Uji tuberculin
  - c. Rontgen paru
  - d. Pemeriksaan mikrobiologi
  - e. Pemeriksaan patologi anatomi dan
  - f. Menjalani prosedur dan tatalaksana yang sesuai dengan prosedur RS tersebut.



**Dicurigai TB bila:**

1. Ada riwayat kontak dekat dengan penderita TB-BTA positif
2. Terjadi reaksi kemerahan cepat (dalam 3-7 hari) setelah imunisasi dengan BCG
3. Berat badan turun tanpa sebab yang jelas atau tidak berat badan tidak naik dalam 1 bulan meskipun telah mendapat asupan gizi yang baik
4. Sakit dan demam lama atau berulang tanpa sebab yang jelas
5. Batuk-batuk lebih dari 3 minggu
6. Pembesaran kelenjar limfe superfisial yang spesifik
7. Skrofuloderma
8. Konjungtivitis fliktenularis
9. Uji tuberculin positif, indurasi > 10 mm
10. Gambaran foto rontgen sugestif TB



Gambar. Algoritma diagnosis TB pada anak

## Diagnosis Laboratorik TB

Seperti yang telah dijelaskan diatas, bahwa diagnosis pasti TB-paru pada orang dewasa maupun pada anak dibuat atas dasar ditemukannya *M. tuberculosis* secara mikroskopis atau biakan atau secara biomolekuler atau ditemukannya komponen *M. tuberculosis* dari penderita.

Adapun sarana diagnosis laboratorik untuk mendiagnosis TB paru bisa dibagi dalam 3 kelompok, yakni:<sup>1-9,38,41,53-65</sup>

1. Mendeteksi organisme penyebab atau komponen-komponennya
  - Mikroskopik: Pewarnaan Ziehl-Neelsen atau fluoresens dengan Auramin-O
  - Biakan: cara konvensional atau radiometric
  - Deteksi antigen, misalnya Protein atau glycolipid antigen: aglutinasi lateks, ELISA (*Enzyme linked immunosorbent assay*)
  - Deteksi komponen dinding sel (*Tuberculostearic acid*): kromatografi, GLC (Gas Liquid Chromatography) atau *Mass spektrofotometri*.
  - Deteksi sikuens DNA spesifik, ribosomal RNA: DNA probes, PCR (*Polymerase Chain Reaction*).
2. Mendeteksi respons imun spesifik terhadap organisme penyebab
  - Uji tuberculin (Mantoux)
  - Menilai imunitas seluler in-vitro: transformasi limfosit, pelepasan  $\gamma$ -interferon
  - Pemeriksaan antibodi spesifik: biasanya dengan ELISA, kromatografi, misal PAP-TB (Peroxidase Antiperoxide-TB), Mycodot, Hexagon-TB, Pathozyme (ELISA), ICT-TB (*Immunochromatographic Test-TB*), pemeriksaan imunitas seluler in-vitro.
  - Pemeriksaan histopatologi
3. Mendeteksi fenomena sekunder karena proses penyakit tersebut
  - Pemeriksaan hematologi
  - Pemeriksaan enzim untuk menilai aktivitas limfosit pada cairan pleura, peritonium dan serebrospinal.

### 1 Pemeriksaan BTA secara langsung dengan pewarnaan

Pemeriksaan BTA langsung dari bahan pemeriksaan (BP) merupakan pemeriksaan yang banyak digunakan untuk mendiagnosis penyakit TB karena cepat, murah dan dapat digunakan sebagai indikator penderita yang infeksius.

Pemeriksaan ini kurang peka karena harus terdapat minimal 5000 basil/mL sputum agar pemeriksaan sediaan apus memberi hasil positif.<sup>7,19</sup>

Pemeriksaan BTA secara langsung dapat dilakukan dengan pewarnaan karbolfusin misalnya dengan pewarnaan Ziehl-Neelsen atau Kinyoun-Gabbet, lalu diperiksa dengan mikroskop cahaya. Pemeriksaan langsung yang lain

menggunakan antibodi monoclonal terhadap bakteri, lalu diperiksa dengan mikroskop fluoresens.<sup>5,38</sup>

Dari berbagai penelitian didapatkan, **nilai sensitivitas** pemeriksaan BTA langsung dengan pewarnaan **sekali** periksa adalah **30% - 40%**, tetapi dengan pemeriksaan **berulang** nilai sensitivitasnya menjadi **65% - 75%**.<sup>7</sup> Pemeriksaan BTA langsung dari 3 dahak (sewaktu-pagi-sewaktu = SPS) selama dua hari berturut-turut mempunyai nilai sensitivitas sama dengan pemeriksaan biakan.<sup>58</sup> Spesifisitas pemeriksaan BTA secara langsung dengan pewarnaan sebesar 99%.<sup>7</sup>

Pada pemeriksaan dahak mikroskopis hasil positif (BTA positif) dapat karena *M. tuberculosis complex* dan *Mycobacteria* saprofit. Oleh karena itu pemeriksaan mikroskopis BTA positif belum pasti *M. tuberculosis*. Untuk diagnosis pasti perlu dilakukan pembiakan sebagai **Standar baku emas**.

Pada program nasional penanggulangan TB, seseorang dinyatakan menderita TB dan harus mendapat terapi jika pada pemeriksaan dahak tiga kali (hari pertama dahak sewaktu, hari kedua dahak pagi dan sewaktu) didapatkan minimal 2 positif.<sup>58</sup>

## 2 Pemeriksaan biakan *Mycobacterium*

Pemeriksaan biakan lebih peka dari pemeriksaan BTA langsung dan pemeriksaan ini dapat membantu dalam menentukan jenis *Mycobacterium*. Pemeriksaan biakan member hasil positif jika dalam BP terdapat 10 - 100 organisme hidup/mL.<sup>1,7</sup>

Media yang lazim digunakan untuk pembiakan *Mycobacterium* dapat dibagi dalam 4 kelompok yaitu:<sup>3,7,59,60</sup>

- a. Media padat dengan bahan dasar telur  
Misal: Lowenstein-Jensen, Petragnani, American Thoracic Society (ATS), Ogawa dan Kudoh.
- b. Media padat dengan bahan dasar agar  
Misal: Middlebrook 7H10 dan 7H11
- c. Media cair  
Konvensional, misal: Dubos, Dubos-Middlebrook 7H9, Sauton dan Middlebrook 7H12  
Radiometrik, misal BACTEC 12B  
Non-radiometrik, misal MB redox, MGIT
- d. Media yang mengandung antimikroba (Media selektif).  
Penambahan antibiotik misal penisilin, polimiksin, amfoterisin B, karbenisilin, linkomisin, trimetoprim, untuk menghambat tumbuhnya organisme lain dan jamur.

Media yang ideal untuk isolasi basil tahan asam antara lain:

- a. Murah dan mudah disiapkan dari bahan-bahan yang mudah didapat
- b. Menghambat pertumbuhan bakteri kontaminan
- c. Memacu pertumbuhan yang banyak dari jumlah basil yang sedikit
- d. Dapat dilakukan identifikasi pendahuluan dari isolate hasil biakan berdasarkan morfologi koloni.

Untuk pembiakan bahan pemeriksaan sputum, media berbasah dasar telur merupakan pilihan pertama, karena media ini memenuhi persyaratan yang disebutkan di atas.

## 2.1 Pemeriksaan biakan dengan media cair (BACTEC 12B)

Dengan menggunakan media BACTEC, *M. tuberculosis* tumbuh lebih cepat sehingga identifikasi sudah biasa dibuat dalam waktu 7 - 14 hari. Pada pemeriksaan ini menggunakan alat pemantau pertumbuhan organisme secara otomatis. BP yang akan diinokulasikan diolah lebih dahulu atau didekontaminasi untuk menghilangkan bakteri kontaminan. Lalu hasil olahan diambil 0,5 mL dan disuntikkan ke dalam media BACTEC 12B dan diinkubasi selama 7 - 14 hari pada suhu 37°C. Dalam media, organisme akan mengkatabolisme substrat berlabel <sup>14</sup>C dan menghasilkan <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> yang dapat dideteksi oleh alat BACTEC 460 secara kuantitatif. Banyaknya <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> yang dihasilkan diterjemahkan sebagai **indeks pertumbuhan (IP)**. Kecepatan dan banyaknya <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> yang dihasilkan sebanding dengan kecepatan dan banyaknya organisme yang tumbuh dalam media. **Pertumbuhan dianggap bermakna jika IP > 10** dan hasil biakan dinyatakan **negatif jika** setelah 14 hari tidak ada pertumbuhan atau **IP < 10**. Jika ada pertumbuhan selanjutnya dilakukan pewarnaan tahan asam untuk memastikan adanya BTA.

Jika BTA positif dan tidak bercampur dengan bakteri lain, selanjutnya dilakukan identifikasi dengan uji NAP (*P-Nitro-α-acetylamino-β-hydroxypropiophenone*) untuk menentukan *M. tuberculosis complex*.<sup>7</sup>

Pada uji ini, 1 mL biakan *Mycobacterium* dalam media BACTEC 12B dimasukkan ke dalam vial yang mengandung 5 mg NAP, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 - 6 hari dan selama masa inkubasi setiap hari diamati adanya pertumbuhan. Jika tidak ada pertumbuhan berarti *M. tuberculosis complex* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. microti*, *M. africanum*). Jika ada pertumbuhan berarti bukan *M. tuberculosis complex*.<sup>7</sup>

**Kelemahan** pembiakan pada media cair antara lain tidak dapat menilai morfologi koloni, sulit mengetahui adanya pertumbuhan yang bercampur atau terjadi kontaminasi, mahal dan mempunyai limbah radioisotop. **Keuntungan** dengan cara ini hasil lebih cepat diperoleh.

Sekarang telah ada sistem pembiakan *Mycobacterium* non-radiometrik, antara lain MB/BacT, MB Redox, dan *Mycobacteria Growth Indicator Tube* (MGIT). Dengan cara non-radiometrik, hasil biakan positif bisa diperoleh dalam waktu 6 - 7 hari.<sup>7</sup>

## 2.2. Pembiakan pada media cair MGIT

Pada media MIGT (*Mycobacteria Growth Indicator Tube*) terdapat suatu senyawa fluoresensi yang dilekatkan dalam silikon di dasar tabung, ukuran 16 x 100 mm. Senyawa yang berfluoresensi tersebut sensitif dengan adanya oksigen yang terlarut dalam medium-broth. Pada mulanya sejumlah besar oksigen yang terlarut memadamkan emisi dari senyawa, sehingga hanya sedikit fluoresensi yang bisa dideteksi. Kemudian mikroorganisme yang secara aktif bernafas akan memakai oksigen tersebut dan fluoresensi dapat diamati dengan memakai lampu UV gelombang panjang (lampu Wood) atau transilluminator UV

365 nm. Pertumbuhan juga dapat dideteksi dengan melihat adanya kekeruhan tidak homogen atau butiran-butiran kecil atau lempengan di dalam medium kultur.

Komponen medium adalah senyawa-senyawa yang sangat penting untuk pertumbuhan *Mycobacteria* yang cepat. Adapun senyawa yang penting tersebut antara lain **oleic acid**, **albumin**, **dekstrosa** dan **katalase**. *Oleic acid* digunakan oleh basil tuberkel dan memainkan peran yang penting dalam metabolisme *Mycobacteria*. **Albumin** bertindak sebagai bahan pelindung dengan mengikat asam lemak bebas yang bisa bersifat toksik bagi spesies *Mycobacterium*; dengan demikian meningkatkan keberhasilan. **Dekstrosa** sebagai sumber energi, **Catalase** menghancurkan peroksida yang mungkin ada dalam medium sehingga pertumbuhan bakteri tidak terganggu.

Kontaminasi dapat dikurangi dengan menambahkan ke dalam media (MGIT, MGIT-OADC) antibiotik Polymyxin-B, Amphotericin-B, Nalidixic acid, Trimetoprim, dan Azlocillin (PANTA) sebelum inokulasi dengan spesimen klinik.

Adapun komposisi dari media cair MGIT adalah sebagai berikut:

BBL MGIT (*Mycobacteria Growth Indicator Tube*) mengandung

- 110 uL indikator fluoresensi dan 4 mL broth.
- Indikatornya mengandung Tris 4,7-diphenyl-1.10-phenanthroline ruthenium chloride pentahydrate dalam basis karet silikon (*silicon rubber base*).

Kandungan per L adalah:

- Modified Middlebrook 7H9 Broth base... 5.9 g
- Casein peptone..... 1.25 g
- Glycerol .....3.1 mL

BBL MGIT-OADC berisi 15 mL Middlebrook OADC enrichment.

Kandungan per L adalah:

- Albumin (Bovine albumin).... 50.0 g
- Dextrose..... 20.0 g
- Catalase..... 0.03 g
- Oleic acid..... 0.6 g

BBL MGIT PANTA berisi campuran lyophilized senyawa antibiotik.

Per vial mengandung (PANTA):

- Polymyxin B.... 6000,0 unit
- Amphotericin B.. 600,0 µg
- Nalidixic acid... 2.400,0 µg
- Trimetoprim..... 600,0 µg
- Azlocillin..... 600,0 µg

Cara pemakaian:

- Larutkan satu vial liophilized campuran antibiotik PANTA ke dalam 3 mL akuades atau akuademin steril.

Catatan:

- Pada saat melakukan pembiakan dengan *Mycobacterium tuberculosis* atau melakukan pembiakan dari specimen yang diduga mengandung *M tuberculosis*, harus menggunakan Biosafety Level-3, serta fasilitas lain yang diperlukan. Sebelum digunakan, setiap tabung MGIT hendaknya diperiksa untuk melihat kemungkinan kerusakan atau telah terjadi kontaminasi.
- Penyimpanan reagen BBL MGIT (*Mycobacteria Growth Indicator Tube*), begitu diterima simpan pada suhu 2-25°C, jangan dibekukan. Cairan media (broth) harus terlihat jernih dan tidak berwarna. Tabung MGIT dapat disimpan sesuai dengan petunjuk yang terdapat pada label sampai saatnya kadaluarsa dan diinkubasi sampai delapan minggu.
- BBL MGIT OADC setelah diterima simpan ditempat gelap pada suhu 2-8°C. Tidak boleh dibekukan atau dipanaskan, OADC hendaknya jangan dibuka kecuali akan digunakan. Hindari kontak dengan sinar matahari langsung.
- Campuran antibiotik BBL MGIT PANTA setelah diterima simpan pada suhu 2-8°C. Setelah dilarutkan gunakan dalam waktu 72 jam jika disimpan pada suhu 2-8°C atau dapat tahan sampai 6 bulan jika disimpan pada suhu minus (-) 20°C atau lebih dingin. Sekali dicairkan, campuran PANTA harus segera digunakan dan sisanya hendaknya dibuang. (Becton Dickinson).

### 2.3 Pemeriksaan biakan dengan media padat

BP diolah dan didekontaminasi lebih dahulu, lalu hasil olahan BP diinokulasikan pada media padat dan diinkubasi selama 3 - 8 minggu pada suhu 35 - 37°C. Penilaian hasil biakan dilakukan tiap minggu selama 8 minggu, jika setelah 8 minggu tidak ada pertumbuhan, hasil biakan dinyatakan negatif. Adanya pertumbuhan dapat diketahui dengan melihat adanya koloni. Pada media dengan bahan dasar telur *M. tuberculosis* memperlihatkan koloni tidak berwarna atau berwarna kekuningan, bentuk koloni tidak teratur, koloni kering, permukaan koloni kasar, granular atau morfologi koloni khas seperti bunga kol.<sup>1,11,9,40</sup>

Untuk identifikasi *M. tuberculosis* selain dari morfologi koloni selanjutnya dipastikan bahwa organisme pada koloni adalah BTA dengan membuat preparat apus dan diwarnai dengan pewarnaan tahan asam. Bila benar BTA, selanjutnya dilakukan uji *Niacin* untuk memastikan *M. tuberculosis*.

Uji *Niacin* dilakukan dengan memasukkan 2 mL akuades mendidih ke dalam media yang berisi koloni kuman (minimal 100 koloni), biarkan 10 menit agar *niacin* terekstraksi, selanjutnya cairan ekstrak dipipet 0,2 mL dan dimasukkan ke dalam tabung lain. Kemudian ditambahkan 0,1 mL anilin 4%

dalam alkohol dan 0,1 mL *cyanogen bromide* 10% dalam akuades dan dicampur, setelah 5 menit dibaca hasilnya.

Uji *Niacin* disebut positif jika terbentuk warna kuning, dan jika hasil positif berarti biakan adalah *M. tuberculosis* jenis human.<sup>61</sup>

### 3 Uji Tuberkulin

Setelah infeksi, salah satu respons imun yang terbentuk adalah hipersensitivitas terhadap basil tuberkel. Reaksi hipersensitivitas ini dapat diketahui dengan uji tuberculin (Mantoux).

Respons imun diawali dengan aksi makrofag memfagosit basil dalam upaya menghancurkannya, kemudian menyajikannya untuk proses imun lebih lanjut sehingga tidak terjadi penyakit. Aksi makrofag ini dapat berubah menjadi tidak berdaya dalam menghancurkan mikroorganisme yang masuk ke tubuh. Salah satu yang menyebabkan perubahan adalah karena variasi genetik yang terjadi secara alamiah dan tidak bisa dicegah atau karena mutasi.

Terjadinya variasi genetik atau mutasi pada NRAMP-1 (***Gena Natural-Resistance associated Macrophage Protein-1***) mempengaruhi kepekaan seseorang untuk terjadinya tuberkulosis (TB). Gena NRAMP-1 diekspresikan hanya pada sel RES, terdapat pada **kromosom 2q35**. Variasi atau Mutasi pada gena NRAMP-1 menyebabkan kepekaan (mudah terkena penyakit) terhadap beberapa spesies *Mycobacterium*, juga terhadap lepra, *typhoid fever* dan *Leishmaniasis*.

Peran NRAMP-1 diduga mencegah replikasi bakteri (patogen) intrasel. Caranya, pertama dengan menyandi pembentukan enzim yang cukup dalam lisosom, kedua berperan dalam ketersediaan kation yang diperlukan enzim untuk melakukan aksinya. Dengan kedua peran tersebut bakteri yang difagosit dapat dihancurkan. Bila terjadi perubahan, maka akan terjadi perubahan dalam lingkungan "*phagolysosomal*" Perubahan ini terutama dalam hal kandungan kation divalen yang penting dalam mengaktivasi enzim, seperti  $Mn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  dan lain lain dalam fagolisosom.<sup>2,56,61</sup>

Penilaian tuberkulin sebagai alat diagnostik dimulai pada Januari 1891. Yang pertama menggunakan tuberkulin sebagai alat diagnostik justru dari kedokteran hewan yakni Prof. Eber dari Berlin, lalu Leonard Pearson dari Amerika. Kemudian Florence Seibert dari Henry Phipps Institute di Philadelphia, mengembangkan atau membuat PPD pada tahun 1934.

Uji tuberkulin merupakan uji hipersensitivitas terhadap tuberkuloprotein basil *Mycobacterium tuberculosis*. Bahan yang digunakan untuk uji ini antara lain *Old Tuberculin* (OT) dan atau Derivat protein murni (*Purified protein derivat*) = PPD. *Old Tuberculin* adalah suatu filtrat kaldu yang telah ditanami basil dan berumur 6 minggu, mengandung tuberkuloprotein reaktif, unsur-unsur tuberkel lainnya dan perbenihan.

PPD diperoleh dari fraksionasi kimia OT, lalu reaktivitas biologiknya distandarisasi sebagai **Tuberculin unit (TU)**. Tuberculin unit adalah aktivitas yang terdapat dalam berat yang ditentukan dari PPD Seibert (PPD-S) Lot # 49608 dalam larutan bufer khusus. Kekuatan tuberculin pertama, mempunyai 1-2 TU (*first strength*), kekuatan antara 5 TU (*intermediate strength*) dan kekuatan kedua 250 TU (*second strength*). Dosis tuberculin yang biasa digunakan adalah

5 TU PPD, bila takut terjadi reaksi hipersensitivitas hebat digunakan 1 TU PPD. Bila dengan 5 TU negatif dapat diulang dengan dosis 250 TU PPD. Dosis pemberian, 0.1 mL IC, untuk tiap kekuatan, pembacaan dilakukan 18 – 72 jam setelah penyuntikan.<sup>2,48,49</sup>

#### **Uji tuberkulin cara Mantoux.**

- 0.1 mL PPD 5 TU atau sama dengan OT 1:2000; atau PPD RT 23 kekuatan 2TU, disuntikkan pada lengan bawah bagian volar 1/3 proksimal, diberikan intrakutan (IC)/dalam kulit, menggunakan semprit tuberculin 1 mL dengan jarum nomor 26. Pada penyuntikan harus terjadi gelembung, diameter 5 – 10 mm.
- Hasil dibaca setelah 48 – 72 jam penyuntikan
- Diukur besarnya **indurasi kemerahan** yang terjadi.  
Reaksi lokal yang dapat terjadi yakni eritema (vasodilatasi), edem (reaksi Ag-Ab, pelepasan histamin, indurasi (sel-sel mononuklear atau infiltrasi mononuklear)).

#### **Hasil:**

- Indurasi  $\leq 5$  mm disebut negatif,
- Indurasi 6 – 9 mm disebut ragu-ragu
- Indurasi  $> 5$  mm (**pada gizi buruk**) disebut positif
- Indurasi  $\geq 10$  mm disebut positif.
- Indurasi  $> 15$  mm disebut positif, bila pernah mendapat vaksinasi BCG.

#### **Catatan:**<sup>2,15,48,49</sup>

- Hasil positif uji tuberkulin tergantung pada masing-masing daerah apakah endemik atau bukan endemik.
- Sensitivitas kulit bertahan dan bersifat seumur hidup, tetapi dapat menurun karena bertambahnya usia.
- Untuk hasil negatif atau ragu-ragu harus diulang 2 – 3 minggu kemudian dengan dosis yang sama atau segera diulang menggunakan OT 1:100 atau PPD 250 TU.
- Yang pernah mendapat vaksinasi BCG dan tidak menderita penyakit TB, maka hasil uji tuberkulin akan menunjukkan diameter indurasi 5 - 10 mm.
- Uji tuberkulin pada anak merupakan salah satu prosedur diagnostik TB penting, kadang-kadang merupakan satu-satunya bukti untuk menyatakan adanya infeksi *M. tuberculosis*.

#### **Interpretasi hasil uji tuberkulin**

**Negatif**, tubuh bebas dari TB atau reaksi anergi/alergi oleh karena TB meluas, campak (infeksi virus) atau vaksinasi virus polio atau morbili, penyakit Hodgkin, sarkoidosis, obat-obat penekan imun (kortikosteroid), obat isoniazid, PCM, pertusis, difteri, tifus abdominalis.

**Positif**, tubuh pernah mengalami infeksi *M. Tuberculosis*, *M.bovis*, dan *Mycobacteria* pathogen lain, kemungkinan masih aktif atau sudah sembuh. Atau sudah divaksinasi dengan BCG.



## Penyebab potensial reaksi Negatif palsu

Faktor yang berkaitan dengan orang yang diuji

- Infeksi Virus (Measles, mumps, chickenpox, poliomyelitis), bakteri (tifoid, pertusis, TB-berat, pleuritis TB), jamur (blastomikosis)
- Vaksinasi virus hidup (measles, mumps, polio)
- Gangguan metabolik (gagal ginjal kronik, uremia)
- Faktor-faktor nutrisi (kekurangan protein berat)
- Penyakit-penyakit yang mempengaruhi organ limfoid (Hodgkin's, limfoma, CLL, sarkoidosis, keganasan)
- Obat-obatan (kortikosteroid, bahan-bahan immunosupresif)
- Usia (bayi baru lahir, orang tua)
- Ain-lain (dermatitis atopik, stres, bedah, luka bakar, cangkok jaringan)

Faktor yang berkaitan dengan penggunaan tuberkulin

- Penyimpanan tidak benar
- Pengenceran tidak benar
- Denaturasi kimia
- Kontaminasi
- Adsorpsi (dikontrol dengan menambahkan Tween 80)

Faktor yang berkaitan dengan cara penggunaan

- Antigen yang disuntikkan terlalu sedikit
- Pemberian terlambat setelah tuberkulin dimasukkan ke dalam spuit
- Penyuntikan terlalu dalam

Faktor yang berkaitan dengan pembacaan dan pencatatan hasil

- Pembaca hasil uji tidak berpengalaman
- Bias yang tidak disadari atau disadari
- Pencatatan salah.

## 4 Pemeriksaan serologi

Setelah infeksi akan diperoleh kekebalan tertentu, terbentuk antibodi terhadap berbagai unsur partikel. Antibodi yang terbentuk dapat diketahui dengan uji presipitasi, uji ikatan komplemen, reaksi hemaglutinasi pasif atau ELISA (*Enzyme linked immunosorbent assay*).

Pemeriksaan serologi meliputi pemeriksaan untuk mendeteksi adanya antigen atau antibodi spesifik terhadap *M. tuberculosis* dalam serum penderita TB. Pemeriksaan untuk mendeteksi antigen dilakukan dengan menggunakan antibodi monoklonal dan hasil positif menyatakan adanya infeksi *M. tuberculosis*.<sup>38,47</sup>

Berdasarkan penelitian tentang adanya antibodi spesifik pada penderita TB, menunjukkan bahwa antibodi spesifik IgG yang meningkat dapat membedakan antara penderita TB dan bukan penderita TB (Ivanyi, 1990). Berbagai metode pemeriksaan telah digunakan untuk mendeteksi IgG spesifik, namun sebagai metode pilihan adalah *ELISA*.<sup>62</sup> Hasil pemeriksaan IgG spesifik *M. tuberculosis* dipengaruhi oleh jenis antigen yang digunakan (**tabel 2.7**).

Bila menggunakan antigen lipoarabinomanan dengan metode *ELISA*, sensitivitas berkisar antara 40% - 80% dan spesifisitas berkisar 92% - 100%. Bila menggunakan antigen protein 38-kD dengan metode *ELISA*, sensitivitas berkisar antara 53% - 83% dan spesifisitas antara 93% - 100%.<sup>46</sup>

Tabel 2.7 Sensitivitas dan spesifisitas pemeriksaan serologi dengan berbagai antigen pada penderita-TB BTA positif.<sup>46</sup>

<b>Antigen</b>	<b>Sensitivitas (%)</b>	<b>Spesifisitas(%)</b>
<b>Semi-murni</b>		
1. Antigen 5	72 (49 - 87)	97 ( 92 - 100 )
2. Antigen A60	88 (68 - 96)	91 ( 87 - 100 )
3. Glikolipid	64 ( 45 - 98)	97 ( 92 - 99 )
4. Membran plasma	89 ( 75 - 93)	96 ( 92 - 97 )
5. Lipoarabinomanan	56 ( 40 - 81)	94 ( 92 - 100 )
<b>Murni</b>		
1. Ag 30/31 kDa (85B)	67 ( 57 - 75)	99 ( 98 - 100 )
2. Ag 71 kDa (hsp 70)	82	91
3. Ag 45 kDa	54	83
4. Ag 38 kDa	70 ( 53 - 83 )	97 ( 93 - 100 )
5. Ag 14 kDa	71 ( 71 - 72 )	85 ( 74 - 98 )
6. Ag 19 kDa	62 ( 61 - 63 )	94 ( 91 - 98 )
<b>Epitop Ab-Mo</b>		
1. TB72	74 ( 63 - 85 )	98 ( 97 - 100 )
2. TB23	61 ( 46 - 76 )	99 ( 98 - 100 )
3. TB68	36 ( 21 - 54 )	99 ( 98 - 100 )
4. TB78	44 ( 24 - 53 )	99 ( 98 - 100 )

Sumber: Disadur dari: Wilkins, 1994.

#### 4.1 ICT Tuberculosis

ICT (*Immunochromatographic Test*) suatu teknik pemeriksaan serologik untuk mendeteksi secara kualitatif antibodi terhadap antigen *Mycobacterium tuberculosis*.

##### Prinsip

ICT Tuberkulosis adalah tes imunodiagnostik in-vitro yang digunakan untuk mendeteksi antibodi *Mycobacterium tuberculosis* dalam serum atau plasma atau whole blood. Tes ini menggunakan 5 antigen hasil sekresi *M tuberculosis* selama infeksi aktif. Kelima antigen ini diimobilisasikan membentuk 4 garis melintang pada membran tes, dua antigen diantaranya digabung dalam satu garis. Pada saat 30 µL serum atau plasma atau *whole blood* diteteskan ke bantalan warna biru, cairan sampel tersebut akan berdifusi melewati garis-garis antigen. Apabila dalam sampel tersebut ada antibodi terhadap basil tuberkel "*human immunoglobulin G*" (IgG), maka antibodi tersebut akan berikatan dengan antigen pada garis. Setelah penutupan kartu tes, anti-human IgG yang

terikat pada partikel *colloidal gold* akan mengikat *human immunoglobulin G* (IgG) menghasilkan satu atau lebih garis berwarna merah muda. Apabila tidak terdapat *human immunoglobulin G* (IgG) dalam sampel, maka tidak terlihat garis warna merah muda dalam daerah pengujian.

**Bahan pemeriksaan:** Serum atau plasma

### **Penyimpanan sampel**

Sebaiknya menggunakan serum atau plasma segar, namun jika sampel tidak dapat segera diperiksa, sampel dapat disimpan pada suhu 2-8<sup>o</sup>C selama 48 jam. Untuk penyimpanan yang lebih lama harus pada suhu – 20<sup>o</sup>C atau lebih dingin. Sampel harus cukup jernih, jika ada endapan harus disentrifugasi sebelum digunakan. Hal ini untuk mencegah kotoran atau gumpalan tidak menutupi membran yang dapat mengganggu aliran atau difusi.

### **Pencegahan dan peringatan**

- Hasil optimal akan diperoleh bila mengikuti petunjuk dengan benar. Reagen harus diteteskan secara hati-hati untuk menjaga presisi dan akurasi. Jangan menggunakan kartu tes bekas
- Jangan menggunakan komponen kadaluarsa. Usahakan kotak penyimpanan harus tetap kering.
- Jangan mencampur komponen dari kit yang berbeda
- Kit jangan dibekukan
- Semua bahan buangan termasuk kartu tes bekas harus diperlakukan sebagai bahan potensial dapat menginfeksi dan dibuang sesuai standar pembuangan.
- Kontaminasi biologis dari pipet, wadah atau reagen dapat menyebabkan penyimpangan hasil. Perhatikan petunjuk pencegahan terhadap bahaya mikrobiologis dan serologis dalam penanganan sampel, bahan buangan dan seluruh prosedurnya.
- Larutan reagen A mengandung sodium azide sebagai bahan pengawet. Sodium azide sangat beracun dan oleh sebab itu harus diperlakukan secara hati-hati agar tidak kontak dengan kulit atau tertelan. Sodium azide bereaksi dengan timah dan pipa tembaga yang dapat menimbulkan bahaya ledakan. Oleh karena itu pada saat pembuangan reagen jangan mengenai timah/tembaga, harus disiram dengan air yang banyak.

### **Batasan prosedur**

Pemeriksaan ini (ICT) untuk menunjukkan ada atau tidaknya human antibodi terhadap TB dalam sampel. Diagnosis akhir harus didasarkan pada korelasi hasil pengujian dengan temuan gejala klinis dan hasil laboratorium lainnya.

### **Cara kerja:**

- Keluarkan kartu tes dari bungkusnya pada saat akan digunakan dan letakkan pada tempat datar.

- Tambahkan 2 tetes reagen A di tempat yang berwarna putih dari bagian bantalan conjugate yang berwarna merah muda-putih
- Tambahkan 30 uL serum atau plasma di tengah bantalan yang berwarna biru lujung atas membran)
- Biarkan sampel berdifusi ke bawah pada membran sampai tepat mencapai garis batas (garis terputus-putus)
- Tambahkan 1 tetes reagen A ke bantalan membran yang berwarna putih (terletak di ujung membran tes berlawanan dengan bantalan warna biru)
- Lepaskan lapisan kertas penutup perekat. Pastikan perekat yang berada di sebelah kanan kartu sudah terbuka. Segera tutup kartunya.
- Baca hasilnya melalui jendela pengamat setelah 15 menit. Garis positif kuat akan muncul dalam waktu 5 menit dan garis positif lemah dalam waktu 15 menit.

### Interpretasi hasil:

#### Hasil pengujian positif

- Pemeriksaan dinyatakan positif apabila satu atau lebih dari satu garis pada area garis tes (T) terlihat di jendela pengamat. Catatan untuk interpretasi hasil pengujian: Hasil dinyatakan positif meskipun garis tes (T) lebih terang atau lebih samar dibandingkan garis kontrol (C).

#### Hasil pengujian negatif

- Pemeriksaan dinyatakan negatif apabila hanya garis kontrol (C) yang terlihat. Untuk memastikan bahwa sampel positif lemah telah memperoleh cukup waktu untuk bereaksi, hasil negatif jangan dinyatakan sampai dengan 15 menit setelah kartu test ditutup.

#### Hasil pengujian tidak sah

- Pemeriksaan dinyatakan tidak sah apabila garis kontrol (C) tidak muncul. Bila hal ini terjadi, pemeriksaan harus diulang menggunakan kartu tes yang baru.

#### Catatan:

- Setiap melakukan pemeriksaan sampel dengan cara ICT, juga harus dikerjakan kontrol positif dan kontrol negatif. Untuk kontrol positif, hasil harus positif dan untuk kontrol negatif, hasil harus negatif.

## 5 Pemeriksaan *M. tuberculosis* dengan *Polymerase Chain Reaction (PCR)*.<sup>44,50</sup>

Pemeriksaan ini untuk menemukan langsung *specific DNA sequence* atau *specific RNA sequence* dari bahan pemeriksaan (BP). Metode *Specific DNA probe* yang ditujukan untuk menemukan Ribosomal RNA hanya sensitif untuk mendeteksi organisme pada biakan positif.

Pada pemeriksaan ini didahului dengan amplifikasi asam nukleat sehingga dapat memperpendek waktu diagnosis menjadi 4–6 jam, sedang spesifitasnya sekitar 98%. Untuk preparat positif sensitivitas uji ini 95%, untuk

preparat negatif sensitivitasnya 60%. Positif palsu dapat terjadi karena kontaminasi dari alat; sedang negatif palsu dapat terjadi karena inhibitor *Taq Polymerase* terdeteksi oleh kontrol internal. Dengan cara ini kuman yang matipun akan terdeteksi.

Pada metode ini bahan pemeriksaan lebih dahulu didekontaminasi, lalu dinetralisasi, kemudian dicuci dengan bufer dan disentrifus. Setelah supernatan dibuang, sedimennya dibuat suspensi, lalu dilakukan ekstraksi DNA. Dari penelitian Buck et al. mendapatkan cara ekstraksi DNA yang terbaik adalah dengan **Sonication**. Dengan cara ini DNA dapat ditemukan jika dalam bahan terdapat **10 - 1000 basil**; sedang dengan cara lain misal dengan **Proteinase K**, harus terdapat  **$\geq 1000$  basil** supaya DNA dapat ditemukan. Hasil ekstraksi kemudian dipresipitasi dengan alkohol dan presipitat yang mengandung DNA disuspensikan dalam akuades untuk selanjutnya diperbanyak dengan PCR. Pada proses PCR terdiri dari 3 tahap.<sup>39,50,57,63-65</sup>

Pertama denaturasi.

DNA yang tadinya beruntai ganda dipisah menjadi beruntai tunggal dengan jalan pemanasan pada suhu  $\pm 90^{\circ}\text{C}$  selama 15 detik - 1 menit.

Ke dua anealing.

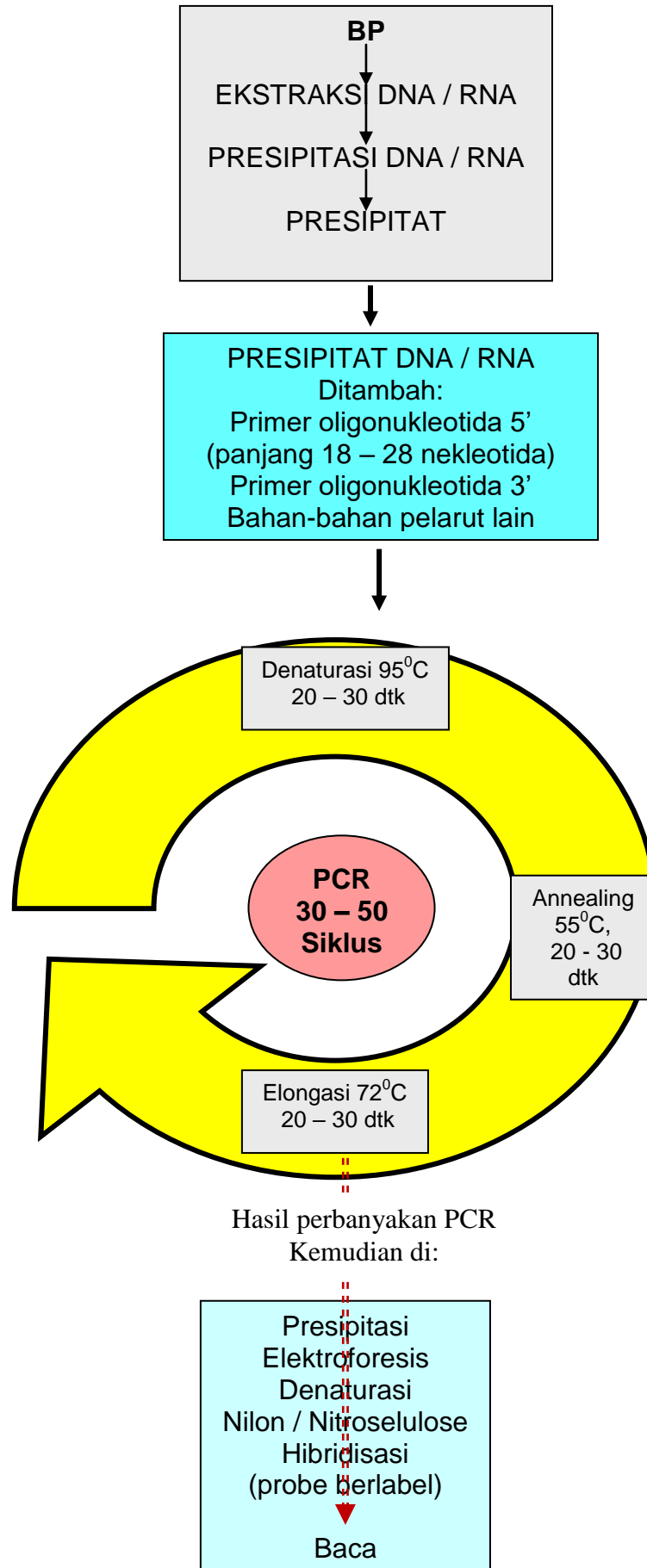
Proses penempelan primer pada DNA sasaran yang akan diperbanyak pada suhu  $\pm 55^{\circ}\text{C}$  ; primer dapat menempel karena primer dibuat dengan urutan basa yang setangkup dengan urutan basa pada ujung DNA sasaran (yang akan diperbanyak).

Ke tiga polimerisasi.

Setelah primer menempel lalu terjadi proses pemanjangan primer sehingga terbentuk DNA untai ganda lengkap, proses ini terjadi dengan bantuan enzim polimerase pada suhu  $\pm 72^{\circ}\text{C}$ .

Daerah sasaran yang akan diperbanyak antara lain daerah gena yang menyandi protein MPB64, pada daerah 240bp (460 - 700bp) dari gena tersebut. Dipilih daerah ini karena protein yang disandi oleh gena tersebut spesifik untuk *M. tuberculosis*.

Primer yang digunakan untuk memperbanyak daerah tersebut adalah oligonukleotida dengan urutan nukleotida: **5'-TCCGCTGCCAGTCGTCTTCC-3'** dan **5'-GTCCTCGCGAGTCTAGGCCA-3'** (Manjunath et al, 1991). Daerah sasaran lain yang banyak diteliti adalah **Insertion Sequence 6110 (IS6110)**.



Daerah spesifik ini terdapat secara berulang 8 - 20 kali dalam genom pada kebanyakan strain *M. tuberculosis*. Primer yang dibuat untuk memperbanyak daerah ini adalah oligonukleotida dengan urutan nukleotida: **5'-CGTGAGGGCATCGAGGTGGC-3'** dan **5'-GCGTAGGCGTCGGTGAC AA A-3'**. Sasaran lain adalah **gena antigen 65-kD**; primer untuk memperbanyak daerah ini dirancang untuk menghasilkan produk 383-basepair (bp) yang diperbanyak dari DNA mikobakteria. Di dalam segmen ini terdapat untai spesifik untuk berbagai spesies dari mikobakteria.

Hasil perbanyakan PCR kemudian dipresipitasi dengan etanol lalu disuspensikan dalam akuades. Selanjutnya DNA atau fragmen DNA dalam suspensi dielektroforesis pada agarose gel 2%, lalu didenaturasi dengan merendam dalam larutan alkali. Utas tunggal DNA pada agarose gel kemudian dipindahkan ke lembaran nilon atau nitroselulose dengan jalan menempelkan nilon atau nitroselulose pada agarose gel dan ditekan kuat. Utas tunggal DNA pada lembaran nilon kemudian diinkubasi dalam probe-berlabel (dihybridisasi dengan probe berlabel). Probe yang setangkup dengan DNA sasaran akan berikatan dan probe sisa dibuang saat pencucian. Setelah dicuci, lembaran nilon diekspos dengan sinar-X atau UV atau otoradiografi. Untuk melihat atau mengenali pola sasaran yang akan dicari dibandingkan dengan kontrol atau dengan bantuan komputer.<sup>22,44,45</sup>

## 6. Pemeriksaan fenomena sekunder

Untuk mendeteksi fenomena sekunder yang disebabkan oleh proses penyakit tersebut dengan pemeriksaan hematologi dan atau pemeriksaan enzim adenosin deaminase dalam cairan pleura, peritonium dan cairan serebrospinal. Pemeriksaan hematologi kurang sensitive dan kurang spesifik untuk mendiagnosis TB.

Pada pemeriksaan hematologi dapat ditemukan anemia ringan (normokrom normositer), pada TB aktif ditemukan leukositosis ringan dengan pergeseran ke kiri, limfosit normal atau rendah dan laju endap darah meninggi. Pada saat penyembuhan terjadi limfositosis relative dan jumlah lekosit normal.

Pada pemeriksaan Adenosin Deaminase (ADA), peningkatan enzim ini menunjukkan adanya peningkatan aktivitas limfosit. Pada penderita TB terjadi peningkatan akrivitas limfosit.

