



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**PERBANDINGAN UJI TUBERKULIN DENGAN KADAR  
INTERFERON GAMMA PADA KULTUR SEL LIMFOSIT ANAK  
TERSANGKA TB DI RS DR. M. DJAMIL PADANG**

**TESIS**



**LITA FARLINA  
072 120 24**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS 1  
ILMU KESEHATAN ANAK  
PASCA SARJANA BIOMEDIK FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG 2013**

## PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK

Tesis 12 Desember 2013

Lita Farlina

### PERBANDINGAN UJI TUBERKULIN DENGAN KADAR INTERFERON GAMMA PADA KULTUR SEL LIMFOSIT ANAK TERSANGKA TB DI RS DR. M. DJAMIL PADANG

Lita Farlina, Finny Fitry Yani, Darfioes Basir, Hafni Bachtiar

#### ABSTRAK

##### Latar belakang

Tuberkulosis (TB) masih merupakan penyakit utama yang menyebabkan kesakitan dan kematian. Uji tuberkulin atau *Tuberculin Skin Test* (TST) merupakan metode yang masih dijadikan pedoman, namun uji ini mempunyai sensitivitas yang rendah dan banyak diperdebatkan para ahli sehingga perlu dilakukan pemeriksaan uji interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) yang lebih spesifik untuk mendukung diagnostik infeksi TB anak.

##### Tujuan

Mengetahui perbedaan TST dengan uji IFN- $\gamma$  pada kultur sel limfosit anak tersangka TB, sehingga dapat membantu mempercepat diagnosis infeksi TB anak.

##### Metode

Dilakukan secara *cross sectional* di poliklinik anak RS dr. M. Djamil Padang sejak bulan Februari 2012-November 2012. Populasi adalah anak berusia 3 bulan-14 tahun tersangka TB atau memiliki kontak erat dengan penderita TB paru BTA(+) yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Pada pasien dilakukan pemeriksaan TST dan uji IFN- $\gamma$  kemudian hasil penelitian dilakukan uji kesesuaian ( $kappa=\kappa$ ).

##### Hasil

Dari 34 anak tersangka TB didapatkan sebanyak 9(26,5%) anak TST positif dan 16(47,1%) anak hasil uji IFN- $\gamma$  positif. Didapatkan uji kesesuaian 38,23%( $\kappa=0,27$ ).

##### Kesimpulan

Uji IFN- $\gamma$  memiliki angka kesesuaian cukup dibandingkan TST, sehingga belum perlu digunakan sebagai uji diagnostik infeksi TB pada anak.

Kata kunci: Uji tuberkulin, IFN- $\gamma$ , anak tersangka TB

## STUDY PROGRAM OF BIOMEDICINE

Thesis, December 12<sup>th</sup> 2013

Lita Farlina

### COMPARISON OF TUBERCULIN SKIN TEST AND INTERFERON GAMMA ON LYMPHOCYTE CELL CULTURE IN TB SUSPECTED CHILDREN IN DR. M. DJAMIL HOSPITAL PADANG

Lita Farlina, Finny Fitry Yani, Darfioes Basir, Hafni Bachtiar

#### ABSTRACT

##### Background

Tuberculosis (TB) is still a major disease that causes substantial morbidity and mortality. Children of primary tuberculosis infection in general often go unnoticed. Tuberculin Skin Test (TST) using Purified Protein Derivative (PPD) is a method that is still used as a guideline, but this test has low sensitivity and much debated by experts so that interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) test which more specific is need to be done to support diagnostic TB infection.

##### Objective

To distinguish the difference between TST and IFN- $\gamma$  test in cultured lymphocytes child TB suspects, so it can help speed up the diagnosis of TB infection in children.

##### Methods

The tests were conducted cross-sectionally in pediatric ambulatory dr. M. Djamil hospital Padang between February 2012 to November 2012. The study population was children aged 3 months-14 years of suspected TB or have close contact with adult with pulmonary TB smear (+). They were put through TST and IFN- $\gamma$  tests, subsequently the suitability of the results were verified with the ( $\kappa$  test).

##### Result

From 34 children with suspected TB, there are 9 (26.5%) children with TST positive and 16 (47,1%) children with IFN- $\gamma$  test positive. The concordance test was 38.23% ( $\kappa=0.27$ ).

##### Conclusion

IFN- $\gamma$  test was having enough compatibility rate than TST test, therefore it should not be used as a diagnostic of TB infection child.

Keyword: TST, IFN- $\gamma$  test, suspected TB children

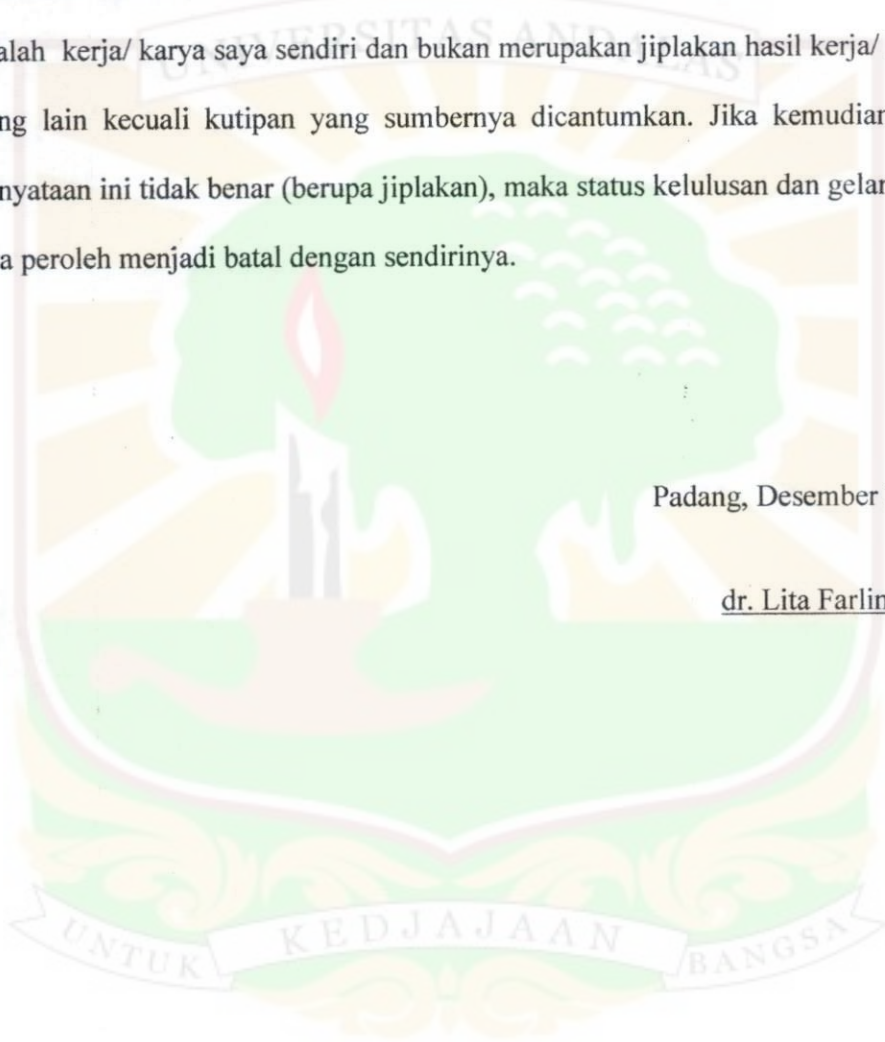
## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis yang saya tulis dengan judul, **Perbandingan uji tuberkulin dengan kadar interferon gamma pada kultur sel limfosit anak tersangka TB di RS. Dr. M. Djamil Padang.**

Adalah kerja/ karya saya sendiri dan bukan merupakan jiplakan hasil kerja/ karya orang lain kecuali kutipan yang sumbernya dicantumkan. Jika kemudian hari pernyataan ini tidak benar (berupa jiplakan), maka status kelulusan dan gelar yang saya peroleh menjadi batal dengan sendirinya.

Padang, Desember 2013

dr. Lita Farlina



## RIWAYAT HIDUP

Lita Farlina dilahirkan di Jakarta pada tanggal 25 Juli 1980 dari pasangan Dr. H. Rachmat Sadeli, SpA (Ayah) dan dra. Hj. Yulni Fari, SS (Ibu) yang berasal dari Bogor dan Pariaman. Merupakan anak ke-5 dari 5 bersaudara, Irfat Hista Saputra, SE, SH, Dita Komeita, SE, MM, Retia Farisa, SH, MM dan Rily Novita, SE, MM. Lita Farlina memiliki suami yang bernama Shaifullizan Samsuri, B. Arch, BA. Arch.

Lita Farlina telah bersekolah di SD Mardi Yuana, Serang-Banten, SMPN 1 Bogor dan SMUN 1 Bogor. Pendidikan dokter umum diselesaikan tahun 2005 di Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti Jakarta. Setelah lulus, sempat bekerja sebagai dokter PTT di Puskesmas Tarailu, Kabupaten Mamuju, Sulawesi Barat sebelum akhirnya mengikuti Program Double Degree Pendidikan Dokter Spesialis Anak dan Pascasarjana Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang.

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat, hidayat dan karuniaNya sehingga saya dapat menyelesaikan tesis yang berjudul **“Perbandingan Uji Tuberkulin dengan Kadar Interferon Gamma pada Kultur Sel Limfosit Anak Tersangka TB di RS Dr. M. Djamil Padang.”** Tesis ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memenuhi persyaratan Program Pendidikan Dokter Spesialis Anak dan Program S2 Biomedik Program Pasca Sarjana UNAND.

Terima kasih yang sebesar-besarnya penulis ucapkan kepada Prof. dr. Darfioes Basir, SpA(K), dr. Finny Fitry Yani, SpA(K) dan Dr. dr. Hafni Bachtiar, MPH yang telah banyak memberikan bimbingan, bantuan dan dorongan dalam penyelesaian tesis ini. Terima kasih juga penulis ucapkan kepada dr. Rusdi, SpA(K) sebagai kepala bagian Ilmu Kesehatan Anak, dr. Gustina Lubis, SpA(K) sebagai ketua program studi Ilmu Kesehatan Anak FK UNAND-RS dr. M. Djamil Padang, serta seluruh staf pengajar Ilmu Kesehatan Anak yang selama ini telah memberikan bimbingan dan ilmu kepada penulis selama mengikuti program pendidikan dokter spesialis Ilmu Kesehatan Anak. Terima kasih juga penulis ucapkan kepada Ayahanda tercinta, dr. H. Rachmat Sadeli, SpA dan mama, dra Hj. Yulni Fari, SS, suami Shaiful Lizan Samsuri, B. Arch, BA. Arch serta anakku Muhamad Shaerique Lideansyah yang selalu tidak ada henti-hentinya memberikan dorongan baik moril maupun spiritual selama penulis menjalani program pendidikan dokter spesialis Ilmu Kesehatan Anak ini.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini jauh dari sempurna, untuk itu penulis sangat mengharapkan kritikan dan saran yang membantu untuk lebih baiknya tesis ini nantinya. Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan karuniaNya kepada kita semua, Amin.

Padang, Desember 2013

Penulis

## DAFTAR ISI

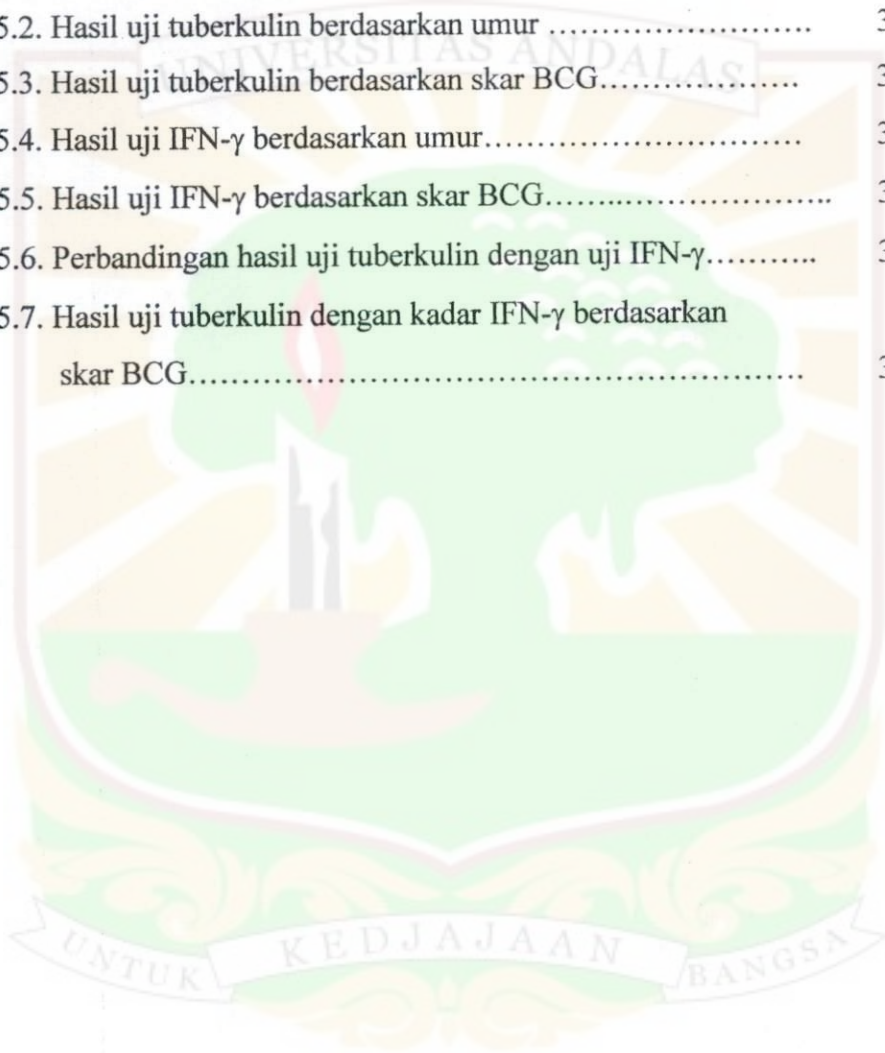
Lembar Persetujuan.....	i
Abstrak.....	iii
Abstract.....	iv
Pernyataan Keaslian tesis.....	v
Riwayat Hidup.....	vi
Kata Pengantar.....	vii
Daftar Isi.....	viii
Daftar Tabel.....	x
Daftar Gambar.....	xi
Daftar Singkatan.....	xii
<b>BAB I. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum.....	4
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1. Bidang Akademik.....	4
1.4.2. Bidang Pelayanan Masyarakat.....	5
1.4.3. Bidang Penelitian.....	5
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
2.1. Epidemiologi.....	6
2.2. Bakteriologi <i>M. Tuberculosis</i> .....	6
2.3. Respon Imun Terhadap Infeksi Tuberkulosis.....	8
2.3.1. Imunopatogenesis infeksi <i>M. Tuberculosis</i> .....	9
2.3.1.1. Imunitas Alamiah.....	10
2.3.1.2. Imunitas Adaptif.....	11
2.4. Uji Tuberkulin.....	12
2.4.1. Tuberkulin.....	12
2.4.2. Imunologi Tuberkulin.....	13
2.4.3. Cara Pemberian dan Pembacaan.....	13
2.4.4. Interpretasi Uji Tuberkulin.....	14
2.5. Interferon Gamma.....	15

BAB III. KERANGKA KONSEP.....	20
3.1. Hipotesis Penelitian.....	21
BAB IV. METODOLOGI.....	22
4.1. Desain Penelitian.....	22
4.2. Tempat dan Waktu Penelitian.....	22
4.3. Subjek Penelitian.....	22
4.3.1. Populasi penelitian.....	22
4.3.2. Sampel penelitian.....	22
4.3.3. Perkiraan Besar Sampel.....	23
4.4. Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	23
4.5. Variabel Penelitian.....	24
4.6. Prosedur Penelitian.....	24
4.7. Prosedur kerja uji tuberkulin dan kadar interferon- $\gamma$ .....	25
4.8. Alur Penelitian.....	28
4.9. Implikasi Etik pada manusia.....	29
4.10. Analisis data.....	29
4.11. Definisi Operasional.....	29
BAB V. HASIL PENELITIAN.....	32
5.1. Karakteristik Penelitian.....	32
5.2. Hasil uji tuberkulin.....	33
5.3. Hasil uji IFN- $\gamma$ .....	34
5.4. Kesesuaian uji IFN- $\gamma$ dan uji tuberkulin.....	35
BAB VI. PEMBAHASAN.....	37
BAB VII. PENUTUP.....	41
7.1. Kesimpulan.....	41
7.2. Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA .....	42
LAMPIRAN	



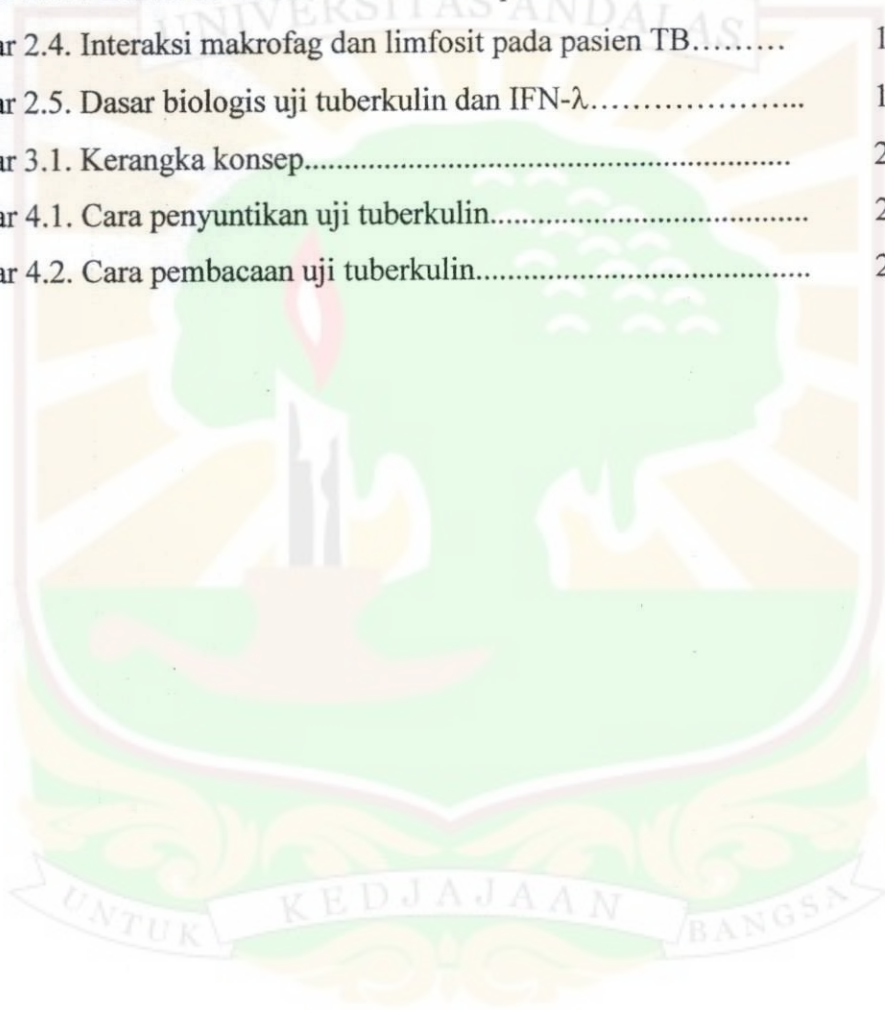
## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Sebab-sebab hasil positif palsu dan negatif palsu uji tuberkulin.....	15
Tabel 5.1 Karakteristik penelitian.....	32
Tabel 5.2. Hasil uji tuberkulin berdasarkan umur .....	33
Tabel 5.3. Hasil uji tuberkulin berdasarkan skar BCG.....	33
Tabel 5.4. Hasil uji IFN- $\gamma$ berdasarkan umur.....	34
Tabel 5.5. Hasil uji IFN- $\gamma$ berdasarkan skar BCG.....	34
Tabel 5.6. Perbandingan hasil uji tuberkulin dengan uji IFN- $\gamma$ .....	35
Tabel 5.7. Hasil uji tuberkulin dengan kadar IFN- $\gamma$ berdasarkan skar BCG.....	35



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Bagian dari dinding sel mikobakterium tuberkulosis.....	8
Gambar 2.2. Reaksi Hipersensitivitas Tipe IV.....	13
Gambar 2.3. Peranan IL-12 dan IFN- $\lambda$ dalam pembentukan sel Th1..	16
Gambar 2.4. Interaksi makrofag dan limfosit pada pasien TB.....	17
Gambar 2.5. Dasar biologis uji tuberkulin dan IFN- $\lambda$ .....	18
Gambar 3.1. Kerangka konsep.....	20
Gambar 4.1. Cara penyuntikan uji tuberkulin.....	25
Gambar 4.2. Cara pembacaan uji tuberkulin.....	26



## DAFTAR SINGKATAN

APC	: <i>antigen presenting cell</i>
ATP-ase	: <i>adenosine triphosphate-ase</i>
BCG	: <i>bacillus Calmette-Guerin</i>
BTA	: <i>basil tahan asam</i>
CD4 <sup>+</sup>	: <i>cluster of differentiation 4</i>
CD8 <sup>+</sup>	: <i>cluster of differentiation 8</i>
CFP	: <i>culture filtrate protein</i>
CMI	: <i>cell-mediated immunity</i>
DTH	: <i>delayed-type hipersensitivity</i>
ELISA	: <i>enzyme-linked immunoabsorbent assay</i>
ELISpoT-T	: <i>enzyme-linked immunspot interferon gamma untuk tuberculosis</i>
ESAT	: <i>early secretary antigenic target</i>
IFN	: <i>interferon</i>
IGRA	: <i>interferon gamma release assay</i>
IL	: <i>interleukin</i>
MHC	: <i>major histocompatibility complex</i>
mm	: <i>milimeter</i>
MOTT	: <i>Mycobacterium other than tuberculosis</i>
M.tb	: <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
NK	: <i>natural killer</i>
PMN	: <i>polimorfonuklear</i>
PPD	: <i>purified protein derivative</i>
RD	: <i>region on difference</i>
RNI	: <i>aeactive nitrogen intermediates</i>
ROI	: <i>reactive oxygen intermediates</i>
TB	: <i>tuberculosis</i>
Tc	: <i>T citotoxic</i>

Th : *T helper*  
TNF : *tumor necrotic factor*  
TST : *tuberculin skin test*  
WHO : *World Health Organization*  
 $\mu\text{m}$  : mikrometer  
ml : mililiter



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Tuberkulosis (TB) merupakan salah satu penyakit tertua di dunia yang sampai saat ini masih menjadi masalah kesehatan global. Laporan World Health Organization (WHO) pada tahun 2011, mencatat peringkat Indonesia menurun ke posisi lima dengan jumlah penderita TB sebesar 429.000 orang. Lima negara dengan jumlah terbesar kasus insidens TB adalah India, Cina, Afrika Selatan, Nigeria dan Indonesia.(WHO, 2011)

Tuberkulosis pada anak masih merupakan penyakit utama yang menyebabkan kesakitan dan kematian. WHO memperkirakan 1 juta kasus baru dan 140.000 anak meninggal setiap tahun karena TB. Pada 9 juta kasus baru TB di seluruh dunia, sekitar 1 juta (11%) terjadi pada anak usia <15 tahun. (Rahajoe , Basir, Makmuri, Kartasasmita, 2007)

Penderita TB anak infeksi primer pada umumnya sering luput dari perhatian, sedangkan sampai saat ini diagnosis TB anak masih menjadi masalah karena tanda dan gejala yang tidak spesifik, populasi basil TB pada anak yang sakit TB rendah dan masih rendahnya nilai uji diagnostik yang ada. Seorang anak dapat terkena infeksi TB tanpa menjadi sakit, uji tuberkulin positif tanpa ada kelainan klinis, radiologis paru dan laboratorium. Diagnosis paling tepat penyakit TB adalah jika ditemukan basil TB dari bahan seperti sputum, bilas lambung,

cairan serebrospinal, cairan pleura atau biopsi jaringan, tetapi hal ini pada anak sulit didapat. (Rahajoe, Basir, Makmuri, Kartasmita, 2007)

Sampai saat ini telah dikembangkan berbagai metode diagnosis untuk TB berdasarkan pendekatan klinis, radiologis, bakteriologis, imunologis dan molekuler. Namun hampir tidak ada metode diagnosis yang benar-benar akurat, cepat, mudah dan murah dengan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi. Kelemahan dalam metode diagnosis menyebabkan keterlambatan diagnosis dan diagnosis yang berlebihan merupakan hal yang sering terjadi. Keadaan ini menyebabkan sulitnya menurunkan angka kesakitan dan kematian yang disebabkan penyakit ini. (Ernst, Nunez, Banaiee, 2007; Wang et al, 2007; Shen et al, 2009; ATS, 2000). Uji *Mantoux* atau *Tuberculin Skin Test (TST)* dengan menggunakan *Purified Protein Derivatif (PPD)* merupakan metode yang masih dijadikan pedoman, namun uji ini mempunyai sensitivitas yang rendah dan banyak diperdebatkan para ahli. Penggunaan secara tepat uji tuberkulin memerlukan pengetahuan tentang antigen, dasar reaksi imunologik terhadap antigen tersebut, teknik penyuntikan serta pembacaan uji. Antigen uji tuberkulin tidak 100% sensitif dan spesifik mendeteksi infeksi *Mycobacterium tuberculosis (M.tb)* karena selain infeksi oleh *M.tb* tersebut, juga dipengaruhi vaksinasi *Bacillus Calmette-Guerin (BCG)* dan *Mycobacterium Other Than Tuberculosis (MOTT)*. Cara penyuntikan yang salah, adanya *booster phenomenon*, serta anergi pada immunokompromais mempengaruhi sensitivitas dan spesifisitas uji tuberkulin. (Desem, Jones, 1998). Sensitivitas uji tuberkulin dilaporkan bervariasi pada daerah dengan tingkat endemisitas yang berbeda: 63% di India sampai 88%

di Amerika. Sedangkan spesifisitasnya bervariasi dari 56% pada populasi dengan vaksinasi BCG sampai 98% pada populasi tanpa vaksinasi BCG. (Menzies, Pai, Comstock, 2007).

Uji diagnosis TB saat ini yang tidak dipengaruhi vaksinasi BCG dan MOTT adalah uji interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). Pemeriksaan ini awalnya diteliti di peternakan sapi, berdasarkan inkubasi darah dengan PPD dan selanjutnya dilakukan pemeriksaan imunologi IFN- $\gamma$  yang dihasilkan sel T sebagai reaksi terhadap PPD. Produksi IFN- $\gamma$  menunjukkan aktivasi sistem imun seluler, serupa dengan konsep uji tuberkulin. Pemeriksaan IFN- $\gamma$  akan menghindari kunjungan kedua untuk menilai hasil uji tuberkulin dan reaksi kulit, tidak ada *boosting effect* dan sedikit bias atau *error* pada pembacaan. Kelebihan lain adalah kemampuannya untuk membedakan antara reaktivitas terhadap M.tb dengan MOTT. Tes ini juga dilaporkan lebih spesifik (mencapai 100%) dibandingkan tes kulit tuberkulin pada populasi yang mendapat vaksinasi BCG. (Mazurek, Vilarino, 2002).

Sampai saat ini di Padang belum ada data mengenai uji diagnostik infeksi TB anak melalui pemeriksaan sel T limfosit dengan mengukur kadar IFN- $\gamma$ . Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan uji tuberkulin dengan kadar IFN- $\gamma$  pada kultur sel limfosit pada anak tersangka TB. Kemampuan untuk mendeteksi secara akurat infeksi M.tb akan membantu mempercepat diagnosis TB pada anak.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian latar belakang masalah di atas, dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut:

Apakah ada perbedaan hasil pemeriksaan uji tuberkulin dengan kadar IFN- $\gamma$  kultur sel limfosit pada anak tersangka TB?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1. Tujuan Umum**

Mengetahui perbedaan uji tuberkulin dengan kadar IFN- $\gamma$  pada kultur sel limfosit anak tersangka TB.

### **1.3.2. Tujuan Khusus**

1. Mengetahui gambaran uji tuberkulin pada anak tersangka TB usia 3 bulan-14 tahun.
2. Mengetahui kadar IFN- $\gamma$  yang dihasilkan oleh sel T pada anak tersangka TB usia 3 bulan-14 tahun.
3. Mengetahui hasil uji tuberkulin berdasarkan skar BCG
4. Mengetahui kadar IFN- $\gamma$  berdasarkan skar BCG
5. Mengetahui perbandingan antara hasil uji tuberkulin dengan IFN- $\gamma$  pada anak dengan dan tanpa vaksinasi BCG

## **1.4. Manfaat Penelitian**

### **1.4.1. Bidang Akademik**

Penelitian ini bermanfaat untuk memperoleh cara yang praktis dan tepat dalam mendiagnosis TB anak dan memberikan informasi mengenai kadar IFN- $\gamma$  yang dapat dijadikan indikator ditemukan kuman TB, sehingga



dapat menjadi bahan acuan bagi klinisi dalam mendiagnosis TB anak secara cepat dan akurat.

#### **1.4.2. Bidang Pelayanan Masyarakat**

Hasil penelitian ini dapat dijadikan pedoman baru dalam menanggulangi TB di masyarakat dan membantu pemerintah dalam mengendalikan TB anak.

#### **1.4.3. Bidang Penelitian**

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai landasan bagi penelitian lebih lanjut dalam mendiagnosis infeksi TB anak.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Epidemiologi

Organisasi Kesehatan Sedunia (WHO) memperkirakan sepertiga populasi dunia terinfeksi dengan M.tb. Asia Tenggara dan Pasifik Barat menyumbang lebih dari setengah masalah TB di dunia dan setiap tahun jutaan orang terinfeksi kuman TB dan ribuan orang meninggal karena penyakit ini.(WHO, 2011)

Menurut WHO, Indonesia menduduki peringkat kelima setelah India, Cina, Afrika Selatan dan Nigeria dalam menyumbang TB di dunia.<sup>1</sup> Tuberkulosis anak merupakan faktor penting di negara berkembang karena jumlah anak berusia <15 tahun adalah 40-50% dari jumlah seluruh populasi.(WHO,2011; Rahajoe, Basir, Makmuri, Kartasasmita, 2007)

Jumlah kasus TB anak di Indonesia diperkirakan 5-6% dari total kasus TB. Data seluruh kasus TB anak dari tujuh rumah sakit Pusat Pendidikan Indonesia selama 5 tahun (1998-2002) dijumpai 1086 kasus TB dengan angka kematian bervariasi dari 0-14%.(Kartasasmita,2009)

#### 2.2 . Bakteriologi M. tuberkulosis

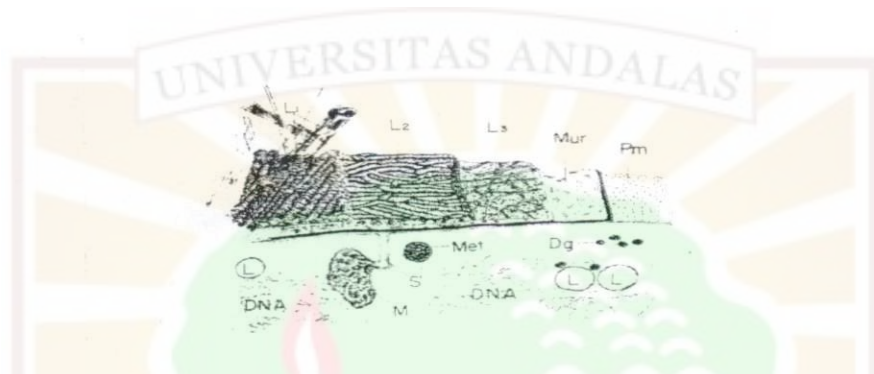
*Mycobacterium tuberculosis* ditemukan pertama kali oleh Robert Koch pada tahun 1882. Kuman ini berbentuk batang ramping, tidak membentuk spora, tidak bergerak dan tidak bersimpai dengan ukuran 0,5x3 µm. Kuman ini sangat sulit untuk diwarnai dengan pengecatan Gram sehingga diperlukan teknik pengecatan khusus untuk mewarnainya. Beberapa teknik pewarnaan yang dikenal antara lain

teknik pewarnaan Ziehl-Nielsen dan Kinyoun-Gabbet. Sekali berhasil terwarnai dengan zat warna basa, bakteri ini tahan terhadap penghilangan warna (dekolorisasi) oleh asam atau alkohol sehingga dinamakan basil tahan asam atau BTA. Sifat tahan asam ini berkaitan dengan tingginya kandungan asam mikolat, asam lemak rantai panjang dan lipid-lipid lain pada dinding selnya. (Grossman, 1995; Jawetz, Melnick, Adelberg, 1995; Harley JP, Prescott LM)

*Mycobacterium tuberculosis* tumbuh secara aerob obligat dimana energi untuk pertumbuhannya didapatkan dari hasil oksidasi senyawa karbon sederhana. Penambahan CO<sub>2</sub> dengan kadar 5-10% dapat merangsang pertumbuhannya. Suhu optimal untuk pertumbuhan adalah 35-37°C. Waktu pembelahan berkisar antara 18-20 jam, dan koloni yang tumbuh tampak cembung, kering, granuler berwarna putih kelabu. (Ernst, Nunez, Banaiee, 2007; Starke, 2007)

Komponen utama mikobakterium adalah polisakarida, yang berada dalam bentuk gabungan kimia dengan lipid di dalam dinding sel. Peranannya dalam patogenesis TB tidak jelas. Zat ini dapat menyebabkan hipersensitivitas tipe cepat dan berlaku sebagai antigen bila bereaksi dengan serum yang terinfeksi. Komposisi yang paling menonjol adalah kandungan lipid yang sangat tinggi, sejumlah 20-40% dari berat keringnya. Dalam sel lipid sebagian besar terikat pada protein dan polisakarida. Lapisan lilin dan tuberkuloprotein diduga berperan dalam hipersensitivitas tuberkulin dan reaktivitas tes kulit. Dinding sel yang kaya lipid berperan untuk sifat hidrofobik, tahan asam, impermeabilitas relatif, tidak dapat ditembus oleh banyak agen dan resisten terhadap aktivitas bakterisid

antibodi dan komplemen. Setiap mikobakteri mengandung beberapa protein yang dapat memicu reaksi tuberkulin. Bila disuntikkan dapat merangsang kepekaan terhadap tuberkulin. Zat tersebut dapat pula menimbulkan pembentukan berbagai antibodi.(Inselman, Kendig, 1998; Utji, Harun, 1994)



Gambar 2.1. Bagian dari dinding sel mikobakterium tuberkulosis (Jawetz, Melnick, Adelberg, 1995)  
Keterangan gambar: L1: Lapisan pertama, L2: Lapisan kedua, L3: Lapisan ketiga, Mur: Lapisan polisakarida, Pm: Lapisan Asam mikolat

### 2.3. Respon Imun Terhadap Infeksi Tuberkulosis

Selama beberapa hari atau minggu awal infeksi TB primer, respons kompleks sedang disiapkan oleh pejamu. Walaupun lekosit polimorfonuklear (PMN) telah aktif pada awal inflamasi namun mereka tidak bekerja dengan baik. Respons humoral atau antibodi yang merupakan pertahanan terhadap bakteri patogen, peranannya dapat diabaikan dalam melawan tuberkulosis. Namun demikian sistem komplemen ikut berperan pada tahap awal fagositosis.(Iseman, 2007)

Mekanisme pertahanan spesifik terjadi 4-8 minggu setelah infeksi berupa sensitisasi sel T terhadap antigen spesifik. Mekanisme tersebut pada tuberkulosis ditandai dengan dimulainya respons *cell-mediated immunity* (CMI) dan *delayed-type hypersensitivity* (DTH) yang akan meningkatkan kemampuan pejamu untuk

menghambat atau mengeliminasi kuman. Respons CMI dan DTH merupakan fenomena yang sangat erat hubungannya dan timbul akibat aktivasi sel T yang bersifat spesifik. Kedua fenomena yang belum dapat dipisahkan tersebut terjadi melalui mekanisme respons imun yang sama dan akan mengubah respons pejamu terhadap paparan antigen berikutnya. Respons DTH ditandai dengan nekrosis perkijuan akibat lisisnya sel makrofag alveoli yang belum teraktivasi, sedang respons CMI timbul setelah makrofag alveoli teraktivasi sehingga menjadi sel epiteloid matur. Penelitian pada binatang percobaan mendapatkan kesan bahwa kedua respons imun tersebut terjadi pada pejamu yang rentan maupun resisten tetapi dengan derajat yang berbeda. Pada pejamu yang resisten didapatkan rasio sel-sel epiteloid terhadap nekrosis perkijuan jauh lebih besar dibandingkan pejamu yang rentan. (Kenyorini, Suradi, Surjanto, 2006; Kaufman, 2002)

Keseimbangan antara CMI dan DTH akan menentukan bentuk penyakit yang akan berkembang. Respons CMI akan mengaktifkan makrofag dan selanjutnya membunuh kuman secara intraselular sedang respons DTH menyebabkan nekrosis perkijuan dan pertumbuhan kuman dihambat secara ekstraselular. Keduanya merupakan respons imun yang sangat efektif menghambat perjalanan penyakit. (Menon, 1997)

### **2.3.1. Immunopatogenesis infeksi *M. tuberculosis***

Setelah terinhalasi di paru, kuman TB mempunyai beberapa kemungkinan. Kemungkinan pertama, respons imun awal pejamu secara efektif membunuh semua kuman TB. Kedua, segera setelah infeksi terjadi multiplikasi, pertumbuhan kuman TB dan muncul manifestasi klinis, yang dikenal sebagai TB primer.

Ketiga, kuman TB dalam keadaan dorman, terjadi infeksi laten dengan uji tuberkulin positif sebagai satu-satunya manifestasi. Keempat, kuman TB laten tumbuh dan muncul manifestasi klinis, disebut sebagai reaktivasi TB (TB pasca-primer). (Inselman, Kendig, 1998)

Respon imun yang terjadi pada infeksi TB terdiri dari respons imun alamiah (*innate immunity*) dan respon imun adaptif (*adaptive immunity*) yang bekerja secara sinergis dan saling melengkapi.

#### **2.3.1.1. Imunitas alamiah**

*M. tuberculosis* masuk melalui *droplet nuclei* pada mukosa saluran nafas dan akan menempati 'resting' makrofag alveoli melalui suatu proses fagositosis, yang terdiri dari penempelan kuman TB pada sel pejamu, internalisasi dan penghambatan pertumbuhan atau pemusnahan kuman. Fagositosis bakteri diawali dengan kontak M.tb dengan berbagai reseptor permukaan makrofag. Bakteri akan masuk ke dalam fagosom. (van Crevel et al, 2002) Melalui saluran limfa, makrofag akan membawa M.tb pada kelenjar limfa regional dan organ limfoid lainnya untuk dipresentasikan pada sel Th1 melalui *Major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas II. Sel Th1 yang aktif akan berdiferensiasi dan berproliferasi menghasilkan beberapa sitokin, seperti IFN- $\gamma$  dan *Tumor Necrotizing Factor alfa* (TNF- $\alpha$ ). IFN  $\gamma$  merupakan suatu *macrophage activator* yang berperan dalam aktivasi makrofag sehingga dapat menghancurkan kuman yang telah difagosit. (Ehrt et al, 2001; Feng et al, 2000; Kawai et al, 2000)

Aktivasi makrofag akan menginduksi siklus pematangan fagosom, sehingga terbentuk fusi fagosom-lisosom. Pada keadaan ini bakteri akan

menghadapi lingkungan yang mengancam, seperti pH yang asam, *reactive oxygen intermediates* (ROI), *reactive nitrogen intermediates* (RNI), enzim lisosomal, dan peptida yang toksik merupakan elemen utama dari aktivitas antimikroba. Karena kebanyakan makrofag membunuh bakteri dalam fagolisosom, patogen intraselular mengembangkan banyak jalan untuk mencegah fagolisosom ini. *Mycobacterium* patogen menghambat fusi fagosom-lisosom dengan mengeluarkan proton *ATP-ase* dari fagosom *M.tb.* (Robinson et al, 2007; Choi et al, 2002)

Kekuatan dari respon imun selular akan menentukan apakah infeksi akan menetap pada tahap ini atau berlanjut. Infeksi tertutup ini berhubungan dengan infeksi TB laten atau persisten yang dapat bertahan sepanjang hidup seseorang tanpa gejala dan tidak menular. (Kaufman, 2002; Smith, 2003)

### **2.3.1.2 Imunitas Adaptif**

Sel T merupakan komponen seluler dari imunitas adaptif yang berperan terhadap infeksi *M.tb.* Subgrup sel T antara lain, sel T  $CD4^+$  (sel T helper, Th), sel T  $CD8^+$  (sel T Sitotoksik, Tc). Sel T  $CD4^+$  dan sel T  $CD8^+$  mendapat presentasi antigen dari makrofag melalui MHC. Terdapat dua kelompok MHC, yaitu MHC kelas I yang mengenal sel T  $CD8^+$  dan MHC kelas II yang mengenal sel T  $CD4^+$ . (Kaufman, 2002; Cowley, Elkins, 2003)

Peranan sel T  $CD4^+$ , khususnya sel Th1 adalah melalui mekanisme efektor yang dilakukan oleh  $IFN-\gamma$ . Walaupun  $IFN-\gamma$  dihasilkan oleh seluruh subgrup sel T, namun  $IFN-\gamma$  yang dihasilkan oleh sel Th1 terlihat pada awal proses infeksi. Sebaliknya, peran sel T  $CD8^+$  masih belum banyak diketahui, hal yang jelas adalah adanya antigen *M.tb* pada sitoplasma *Antigen Presenting Cell* (APC) akan

dipresentasikan melalui jalur MHC kelas I pada sel T CD8<sup>+</sup>. Jika kuman tetap hidup dan melepas antigennya ke sitoplasma maka akan merangsang sel CD8<sup>+</sup> melalui MHC kelas I. Sel CD8<sup>+</sup> yang bersifat sitolitik selanjutnya akan melisis makrofag. Tidak semua makrofag akan teraktivasi oleh IFN- $\gamma$  yang dihasilkan oleh sel Th1 sehingga sel yang lewat tersebut akan dilisis melalui mekanisme DTH.(van Crevel et al, 2002)

#### **2. 4. Uji Tuberkulin**

Uji tuberkulin telah digunakan sebagai uji diagnostik infeksi TB sejak awal tahun 1900. Uji ini murah dan relatif mudah untuk dilakukan. Sejarahnya berawal pada tahun 1882 lalu, segera setelah ditemukan basil TB, Robert Koch mengambil konsentrat steril dari biakan cair yang sudah mati disebut dengan nama *tuberculin*.(Kanaya, Glidden, Chambers, 2001) Perkembangan hipersensitivitas tipe lambat pada kebanyakan individu yang terinfeksi dengan basil tuberkulosis membuat uji tuberkulin sangat dibutuhkan.

Uji tuberkulin adalah metode yang dapat dilakukan untuk melihat seseorang mempunyai kekebalan terhadap basil TB, sehingga sangat baik untuk mendiagnosis infeksi TB.(Kenyorini, Suradi, Surjanto, 2006). Pada anak berusia <5 tahun dengan uji tuberkulin positif, proses tuberkulosis biasanya masih aktif meskipun tidak menunjukkan kelainan klinis dan radiologis.

##### **2.4.1. Tuberkulin**

Uji tuberkulin merupakan salah satu dasar kenyataan bahwa infeksi oleh M.tb akan menyebabkan DTH terhadap komponen antigen yang berasal dari ekstrak M.tb atau tuberkulin. PPD yang dipakai ada 2 jenis yaitu PPD-S dibuat oleh



Siebert dan Glenn tahun 1939 yang sampai sekarang digunakan sebagai standar Internasional. Standar tuberkulin ada 2 yaitu PPD-S dan PPD RT 23, dibuat oleh Biological Standards Staten, Serum Institute, Copenhagen, Denmark. Dosis standar 5 TU PPD-S sama dengan dosis 2 TU PPD RT 23.(AAP, 2002; Stuart et al, 2000) WHO merekomendasikan penggunaan 1 TU PPD RT 23 Tween 80 untuk penegakan diagnosis TB guna memisahkan terinfeksi TB dengan sakit TB.

#### 2.4.2. Imunologi Tuberkulin

Protein tuberkulin yang disuntikkan di kulit, kemudian diproses dan dipresentasikan ke sel dendritik/Langerhans ke sel T melalui molekul MHC-II. Sitokin yang diproduksi oleh sel T, akan membentuk molekul adhesi endotel. Monosit keluar dari pembuluh darah dan masuk ke tempat suntikan yang berkembang menjadi makrofag. Produk sel T dan makrofag menimbulkan indurasi dan vasodilatasi lokal, edema, deposit fibrin dan penarikan sel inflamasi ke tempat suntikan seperti tampak pada gambar 2.2. (Kenyorini, Suradi, Surjanto, 2006)



Gambar 2.2 Reaksi Hipersensitivitas Tipe IV(dikutip dari Kenyorini, Suradi, Surjanto, 2006)

### 2.4.3. Cara Pemberian dan Pembacaan

Uji tuberkulin dilakukan dengan injeksi 0,1 ml PPD secara intradermal (dengan metode Mantoux) di volar lengan bawah. Injeksi tuberkulin menggunakan jarum gauge 27 dan spuit tuberkulin, saat melakukan injeksi harus membentuk sudut 30° antara kulit dan jarum. Uji ini dibaca dalam waktu 48-72 jam setelah suntikan. Hasil uji tuberkulin dicatat sebagai diameter indurasi bukan kemerahan dengan cara palpasi. Standarisasi digunakan diameter indurasi diukur secara transversal dari panjang axis lengan bawah dicatat dalam milimeter. (Mazurek, Vilarino, 2002; Stuart, 2000)

### 2.4.4. Interpretasi Uji Tuberkulin

Hasil uji tuberkulin dengan diameter indurasi  $\geq 10$  mm dinyatakan positif dan dapat diartikan sebagai seseorang tersebut sedang atau pernah terinfeksi dengan kuman *M.tb.* Diameter indurasi 5-9 mm berarti uji tuberkulin meragukan. Arti klinis adalah kesalahan teknik atau memang ada infeksi dengan *Mycobacterium atipik* atau setelah BCG. Perlu diulang dengan konsentrasi yang sama. Kalau reaksi kedua menjadi  $\geq 10$  mm berarti infeksi dengan *M.tb.* Kalau tetap 5-9 mm berarti *cross-reaction* atau BCG, kalau tetap 5-9 mm tetapi ada tanda lain dari tuberkulosis yang jelas maka harus dianggap sebagai mungkin sering kali infeksi dengan *M.tb.* (Rahajoe, Basir, Makmuri, Kartasmita, 2007)

Apabila diameter indurasi 0-4 mm, dinyatakan uji tuberkulin negatif dan dapat diartikan sebagai seseorang tersebut tidak terinfeksi dengan basil TB. Selain itu dapat juga oleh karena terjadi pada saat kurang dari 10 minggu sebelum

imunologi seseorang terhadap basil TB terbentuk. (Rahajoe, Basir, Makmuri, Kartasasmita, 2007)

Satu hal yang perlu dicermati saat pembacaan uji tuberkulin adalah kemungkinan uji tuberkulin positif palsu dan atau negatif palsu. Uji tuberkulin positif palsu dapat juga ditemukan pada keadaan penyuntikan salah dan interpretasi salah, demikian juga negatif palsu, disamping penyimpanan tuberkulin yang tidak baik sehingga potensinya menurun. (Rahajoe, Basir, Makmuri, Kartasasmita, 2007)

**Tabel 2.1. Sebab-sebab hasil positif palsu dan negatif palsu uji tuberkulin**

**Positif palsu**

Penyuntikan salah  
Interpretasi tidak betul  
Reaksi silang dengan Mycobacterium atipik

**Negatif Palsu**

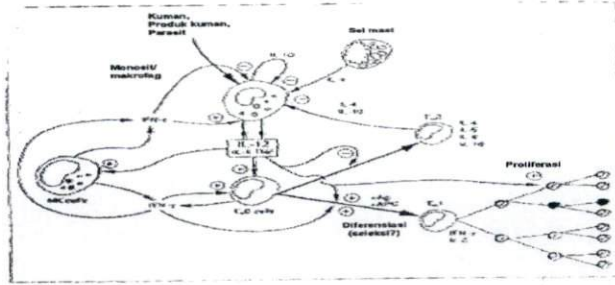
Masa inkubasi  
Penyimpanan tidak baik dan penyuntikan salah  
Interpretasi tidak betul  
Menderita tuberkulosis luas dan berat  
Disertai infeksi virus (campak, rubella, cacar air, influenza, HIV)  
Imunokompetensi selular, termasuk pemakaian kortikosteroid  
Kekurangan komplemen  
Demam  
Leukositosis  
Malnutrisi  
Sarkoidosis  
Psoriasis  
*Jejunoileal by pass*  
Terkena sinar ultraviolet (matahari, solaria)  
Defisiensi pernisiiosa  
Uremia

## 2.5. Interferon Gamma (IFN- $\gamma$ )

Interferon merupakan sekelompok sitokin yang berfungsi sebagai kurir (pembawa berita) antar sel. Interferon dilepaskan berbagai macam sel bila distimulasi oleh berbagai macam penyebab seperti polinukleotida, beberapa sitokin lain serta ekstrak virus, jamur dan bakteri.

Berdasarkan sifatnya terhadap antigen, IFN manusia terbagi menjadi 3 tipe utama yaitu  $\alpha$  (diproduksi leukosit),  $\beta$  (diproduksi fibroblas) dan  $\gamma$  (diproduksi limfosit T). Interferon  $\alpha$  dan  $\beta$  struktur dan fungsinya mirip selanjutnya disebut IFN tipe I. Interferon- $\gamma$  mempunyai reseptor berbeda dan secara fungsional berbeda dengan IFN  $\alpha$  dan  $\beta$  selanjutnya disebut IFN tipe II. Meskipun banyak sitokin yang terlibat pada respons terhadap TB, IFN- $\gamma$  memainkan peran kunci dalam meningkatkan efek limfosit T terhadap makrofag alveolar. (Subagyo, Aditama, Sutoyo, Partakusuma, 2006)

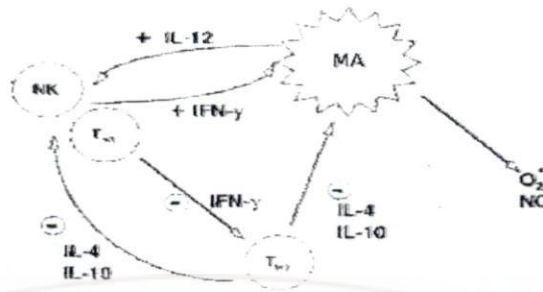
Peran penting IFN- $\gamma$  dalam melawan M.tb dibuktikan pada tikus yang mengalami gangguan pada gen IFN- $\gamma$  dan gen reseptor IFN- $\gamma$ . Pada kedua kelompok tikus terjadi kerusakan jaringan yang luas dan progresif, nekrosis serta proliferasi M.tb kemudian mati dalam 7-9 minggu setelah diberikan vaksin BCG. (Condos, Rom, 2004) Kuman M.tb yang bersifat intraseluler akan merangsang sel makrofag untuk menghasilkan IL-12 yang berperan dalam pembentukan sel Th1 baik secara langsung maupun tidak langsung seperti terlihat pada gambar di bawah ini.



Gambar 2.3. Peranan IL-12 dan IFN- $\gamma$  dalam pembentukan sel Th1. (Schulger, 1998)

Secara tidak langsung IL-12 akan bekerjasama dengan IL-1 dan TNF untuk merangsang sel T dan *natural killer cell* (sel NK) supaya menghasilkan IFN- $\gamma$ . Interferon- $\gamma$  yang dihasilkan selain berperan dalam pembentukan Th1 juga akan memberikan umpan balik positif terhadap produksi IL-12 oleh sel makrofag sedangkan IL-4 dan IL-10 yang dihasilkan oleh sel Th2 memberikan umpan balik negatif sehingga dapat menghambat produksi IL-12. Selain itu, peningkatan produksi IL-12 oleh sel makrofag dapat juga terjadi karena hambatan IFN- $\gamma$  terhadap produksi IL-10 endogen oleh makrofag. (Mattheas, Steinmuller, Ulliman, 2005). Sel Th1 dan sel NK menghasilkan IFN- $\gamma$  yang akan mengaktifkan makrofag alveolar memproduksi berbagai macam substansi, diantaranya adalah oksigen reaktif dan nitrogen oksida. Kedua gas ini akan menghambat pertumbuhan dan membunuh kuman. (Kaufman, 2002)

Makrofag juga menghasilkan IL-12 yang merupakan umpan balik positif dan makin memperkuat jalur tersebut. Meskipun IL-4 dan IL-10 bisa menghambat fungsi makrofag dan sel NK namun IFN- $\lambda$  yang banyak terdapat dalam paru pasien TB mampu menekan fungsi sel Th2 sebagaimana terlihat pada gambar 2.4.

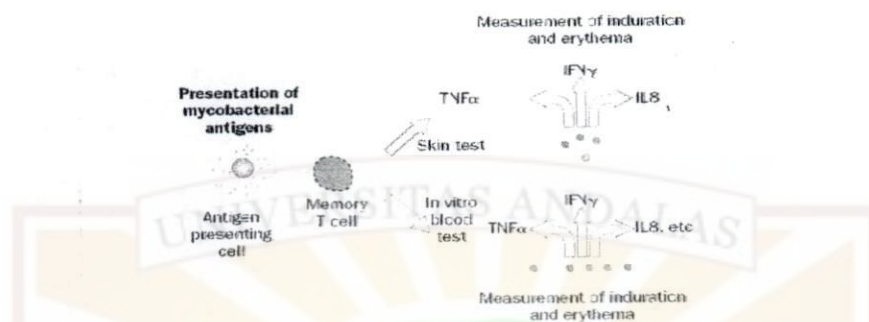


Gambar 2.4. Interaksi makrofag dan limfosit pada pasien tuberkulosis.(Schulger, 1998)

Penelitian terhadap pemeriksaan IFN- $\gamma$  pertama kali difokuskan kepada pemakaian tuberkulin PPD sebagai antigen yang menstimulasi produksi IFN- $\gamma$ . Perkembangan selanjutnya sebagai antigen yang digunakan adalah antigen spesifik yang ada di dalam kuman TB yaitu *early secretory antigenic target* (ESAT 6) dan *culture filtrate protein 10* (CFP 10). Protein tersebut disandi oleh gen yang berlokasi di *region of difference 1* (RD 1) genom kuman TB yang jauh lebih spesifik dari PPD oleh karena tidak dijumpai di substrain kuman BCG dan sebagian besar kuman MOTT kecuali pada *M. kansasii*, *M. marinum* dan *M. szulgani*. (Kusuma, 2007)

Uji tuberkulin dan uji IFN- $\gamma$  didasarkan adanya pelepasan sitokin inflamasi yang dihasilkan oleh sel limfosit T yang sebelumnya telah tersensitisasi antigen M. tb. Pada uji tuberkulin, antigen M.tb yang disuntikkan menyebabkan infiltrasi limfosit dan dilepaskannya sitokin inflamasi. Reaksi inflamasi ini menyebabkan akumulasi sel-sel inflamasi dan menyebabkan indurasi pada tempat suntikan. Pada uji IFN- $\gamma$ , limfosit darah tepi distimulasi secara in-vitro dan kadar IFN- $\gamma$  yang

dihasilkan oleh sel limfosit T tersensitisasi diukur dengan cara ELISA. (Gambar 2.5).

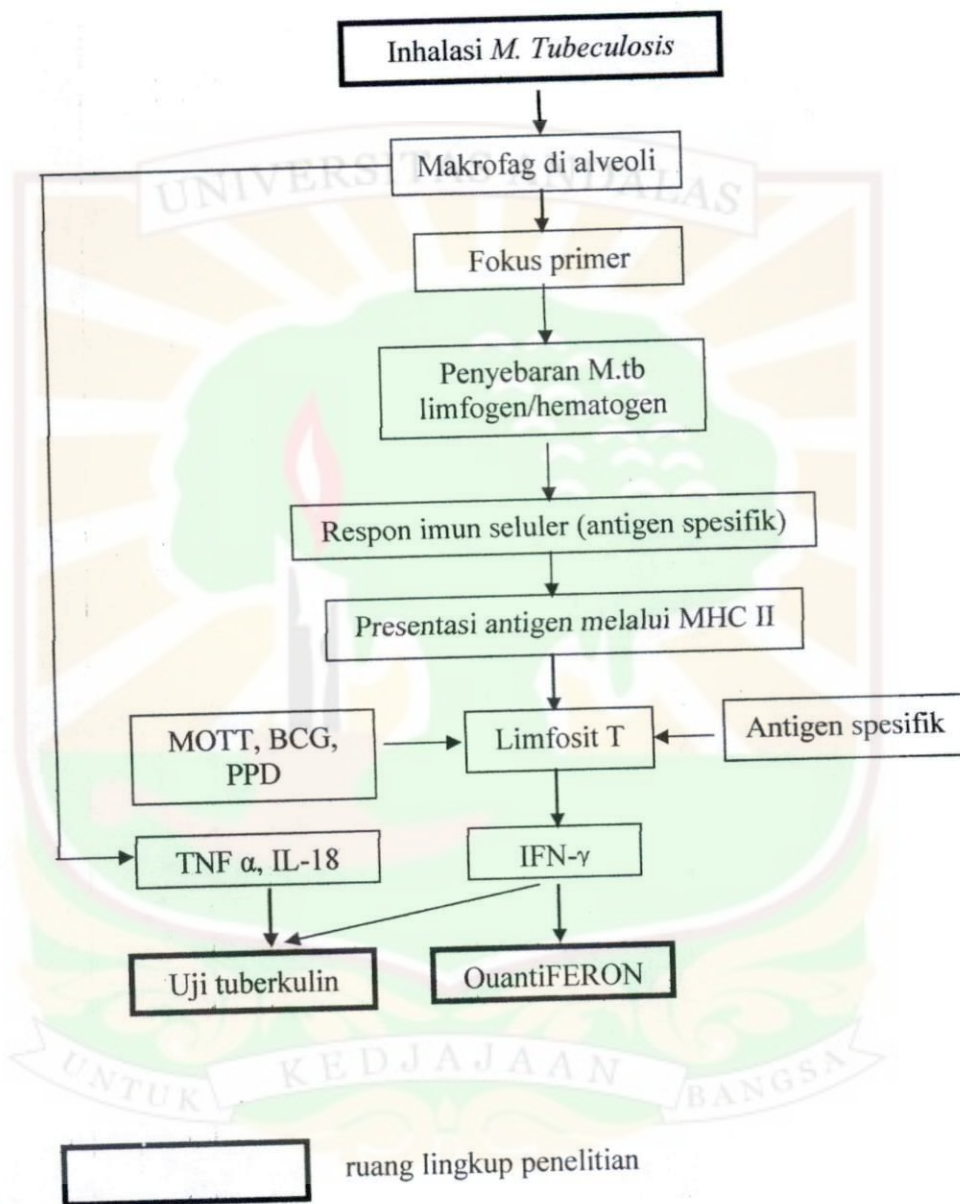


Gambar 2.5. Dasar biologis uji tuberkulin dan IFN- $\gamma$  (Kusuma, 2007)

Pemeriksaan dilakukan cukup dengan mengukur kadar IFN- $\gamma$  di dalam darah tepi pada awalnya, tetapi kemudian berkembang menjadi pengukuran produksi IFN- $\gamma$  oleh sel mononuklear. Apabila pada awal pemeriksaan menggunakan cara yang tidak otomatis maka selanjutnya dikembangkan teknik otomatis. Jika semula yang diukur kadar produksi IFN- $\gamma$  selanjutnya dikembangkan teknik menghitung jumlah sel yang memproduksi IFN- $\gamma$  (spot).

Teknik pemeriksaan IFN- $\gamma$  yang beredar di pasaran adalah *Quantiferon-TB* dan *T-spot TB*. Kedua teknik tersebut mengukur CMI dengan mengukur produksi IFN- $\gamma$  oleh sel T setelah dirangsang oleh antigen kuman TB dengan menggunakan metode *enzyme-linked immunoabsorbent assay* (ELISA) dan *enzyme-linked immunospot interferon gamma* untuk tuberkulosis (ELISPOT TB). Generasi pertama *Quantiferon TB* adalah mengukur kadar IFN- $\gamma$  di darah tepi (*whole blood*) dengan metode ELISA setelah diberi PPD.(Kusuma, 2007).

**BAB III**  
**KERANGKA KONSEP**



Gambar. 3.1 kerangka konsep



## Penjelasan Kerangka Konsep

*Mycobacterium tuberculosis* yang terhirup akan mencapai alveoli. Paparan *M.tb* akan diikuti oleh respon pejamu. Jika mekanisme imunologis non spesifik gagal menghancurkan *M.tb*, maka makrofag alveoli akan memfagosit kuman *M.tb*. Sebagian kecil kuman tidak dapat dihancurkan, akan berkembang biak di dalam makrofag dan akhirnya menyebabkan lisis makrofag. Selanjutnya akan terbentuk fokus primer. Setelah terbentuk fokus primer, imunitas seluruh tubuh terhadap *M.tb* terbentuk. Dari fokus primer, jika imunitas seluler belum terbentuk, maka akan terjadi penyebaran secara hematogen. Antigen *M.tb* akan dipresentasikan melalui MHC kelas II pada sel limfosit T. Secara *in vivo*, adanya  $\text{TNF-}\alpha$ , IL-18 dan  $\text{IFN-}\gamma$  sebagai hasil respon imun ini menimbulkan indurasi pada uji tuberkulin. Sedangkan secara *in vitro*,  $\text{IFN-}\gamma$  diukur kadarnya secara ELISA.

### 3.1. Hipotesis Penelitian

Ada perbedaan hasil pemeriksaan uji tuberkulin dengan kadar  $\text{IFN-}\gamma$  pada kultur sel limfosit dalam mendeteksi infeksi *M.tb* pada anak tersangka TB.

## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1. Desain Penelitian

Desain penelitian secara *cross sectional* kemudian dilanjutkan dengan uji kesesuaian ( $kappa=k$ )

#### 4.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di poliklinik anak RS Dr. M. Djamil Padang. Penelitian dimulai setelah lolos kaji etik dari Panitia Tetap Etik Penelitian Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Andalas/RS Dr. M. Djamil dan dilakukan selama 6 (enam) bulan atau hingga memenuhi jumlah sampel.

#### 4.3. Subjek penelitian

##### 4.3.1. Populasi penelitian

Populasi penelitian adalah semua anak tersangka TB atau memiliki kontak erat dengan penderita TB paru BTA (+) yang berobat ke poliklinik anak dan paru RS Dr. M. Djamil Padang.

##### 4.3.2. Sampel penelitian

Sampel penelitian adalah seluruh populasi yang memenuhi kriteria inklusi.

#### 4.3.3. Perkiraan Besar Sampel

Besar sampel didapat dengan memakai rumus:

$$n = \frac{z_{\alpha}^2 pqN}{z^2 pq + (N-1)d^2}$$

$\alpha$  = tingkat kemaknaan (0,05);  $Z_{\alpha} = 1,96$

$p$  = proporsi infeksi pada anak dengan kontak TB=0,72

$q = (1-p) = 0,28$

$N$  = jumlah anak kontak erat dengan penderita TB paru BTA (+)=50

$d$  = tingkat ketepatan absolut yang dikehendaki (0,1)

$n$  = besar sampel = 34 sampel

#### 4.4. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

Kriteria inklusi

1. Umur 3 bulan-14 tahun
2. Orangtua menyetujui dan bersedia mengikuti penelitian dengan menandatangani *informed consent*

Kriteria Eksklusi

1. Pernah uji tuberkulin dalam waktu <2 minggu
2. Sedang dalam pengobatan penyakit TB
3. Pernah menderita penyakit TB

4. Sedang menderita penyakit yang mempengaruhi organ limfoid (penyakit Hodgkin, leukemia limfositik kronik)
5. Sedang menjalani terapi imunosupresif >2 minggu

#### **4.5. Variabel Penelitian**

- Variabel tergantung adalah variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas yaitu uji tuberkulin dan kadar IFN- $\gamma$ .
- Variabel bebas adalah variabel yang secara langsung berhubungan dengan hipotesis, yang dinilai pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Dalam penelitian ini adalah usia dan skar BCG.

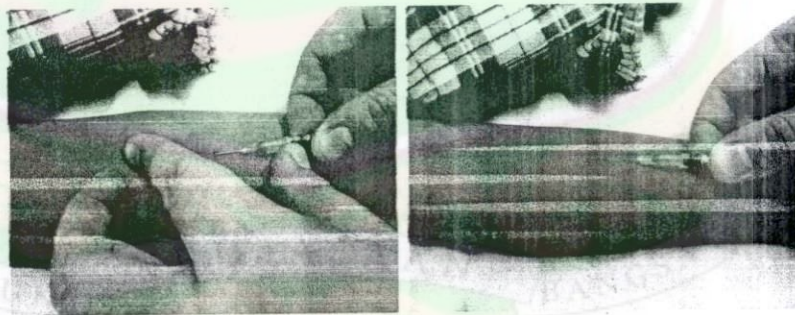
#### **4.6. Prosedur Penelitian**

- a. Sebelum penelitian dimulai, diminta persetujuan dan kesediaan orangtua pasien untuk mengikuti penelitian.
- b. Sampel yang memenuhi kriteria inklusi dicatat nama, umur, jenis kelamin, berat badan, tinggi badan, riwayat vaksinasi BCG sebelumnya dan dilakukan pemeriksaan fisik. Kemudian dilakukan pengambilan darah untuk pemeriksaan kadar IFN- $\gamma$ . Darah yang telah diambil kemudian dikirim ke laboratorium Biomedik FK-Unand untuk dilakukan penghitungan kadar IFN- $\gamma$ . Setelah pengambilan darah, dilakukan uji tuberkulin oleh peneliti.
- c. Dilakukan pembacaan hasil uji tuberkulin dalam waktu 48-72 jam yang dibaca langsung oleh peneliti, pengolahan data dan uji statistik.

#### 4.7. Prosedur Kerja Uji Tuberkulin dan Pemeriksaan Kadar IFN- $\gamma$

##### a. Uji tuberkulin:

1. Pilih daerah kulit di volar lengan bawah kanan. Lengan tidak boleh dibersihkan dengan aseton atau eter.
2. Gunakan alat suntik khusus 1 ml sekali pakai. Gunakan alat suntik tersendiri untuk tiap anak yang diuji. Diambil larutan PPD RT 23 2 TU sebanyak 0,1 ml ke dalam alat suntik.
3. Dengan ringan meregangkan kulit kemudian jarum dimasukkan dengan bevel diatas ke dalam kulit (intradermal). Jangan sentuh pengisap hingga ujung jarum berada pada posisi yang tepat. Suntikan tepat 0,1 ml. Lepaskan jari kita dari pengisap sebelum kita menarik jarum. Ini akan menghasilkan bilur yang pucat, datar, berlubang-lubang yang jelas dan garis batas yang tegas.



Gambar 4.1 Cara penyuntikan uji tuberkulin

4. Hasil uji tuberkulin dalam waktu 48-72 jam dan dibaca langsung oleh peneliti dan 2 orang residen tingkat senior, kemudain diambil nilai rata-rata dari ketiga pembaca. Diameter indurasi diukur

menurut aksis transversal dari lengan menggunakan penggaris transparan yang sama, kemudian dicatat. Luas eritema yang ada tidaklah penting. Hasil positif jika diameter indurasi yang terjadi  $\geq 10$  mm.

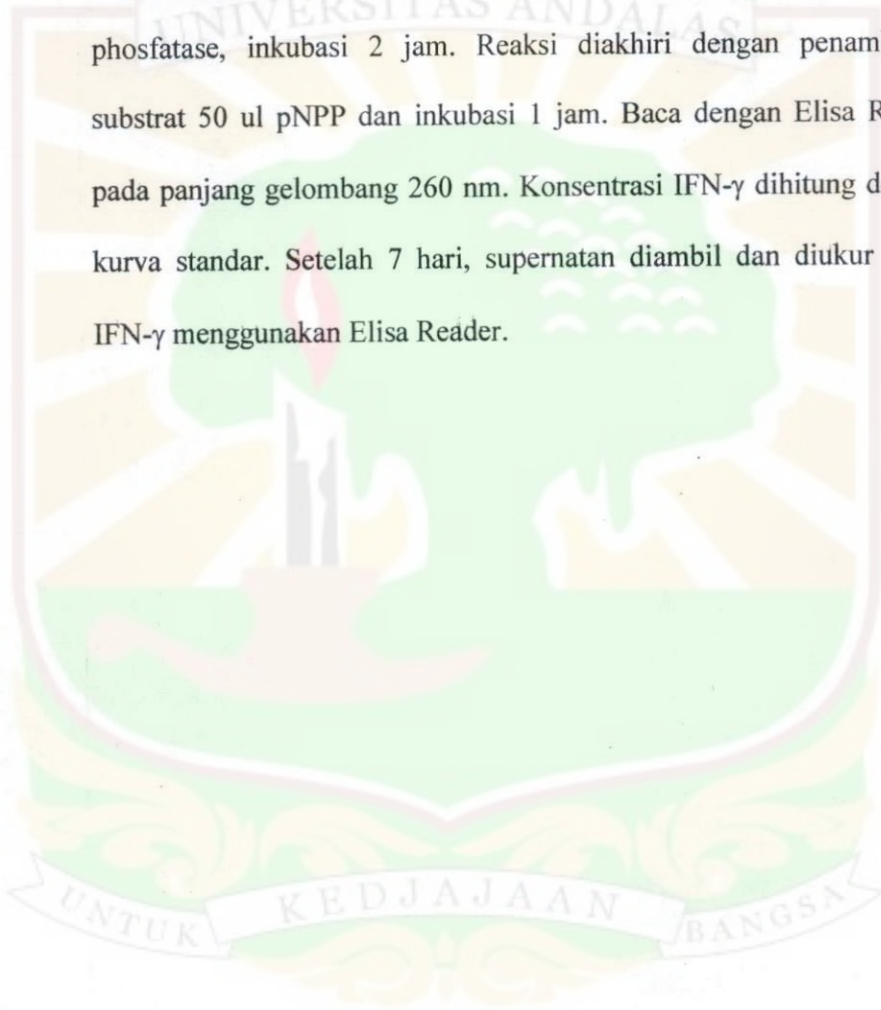


Gambar 4.2 Cara pembacaan uji tuberkulin

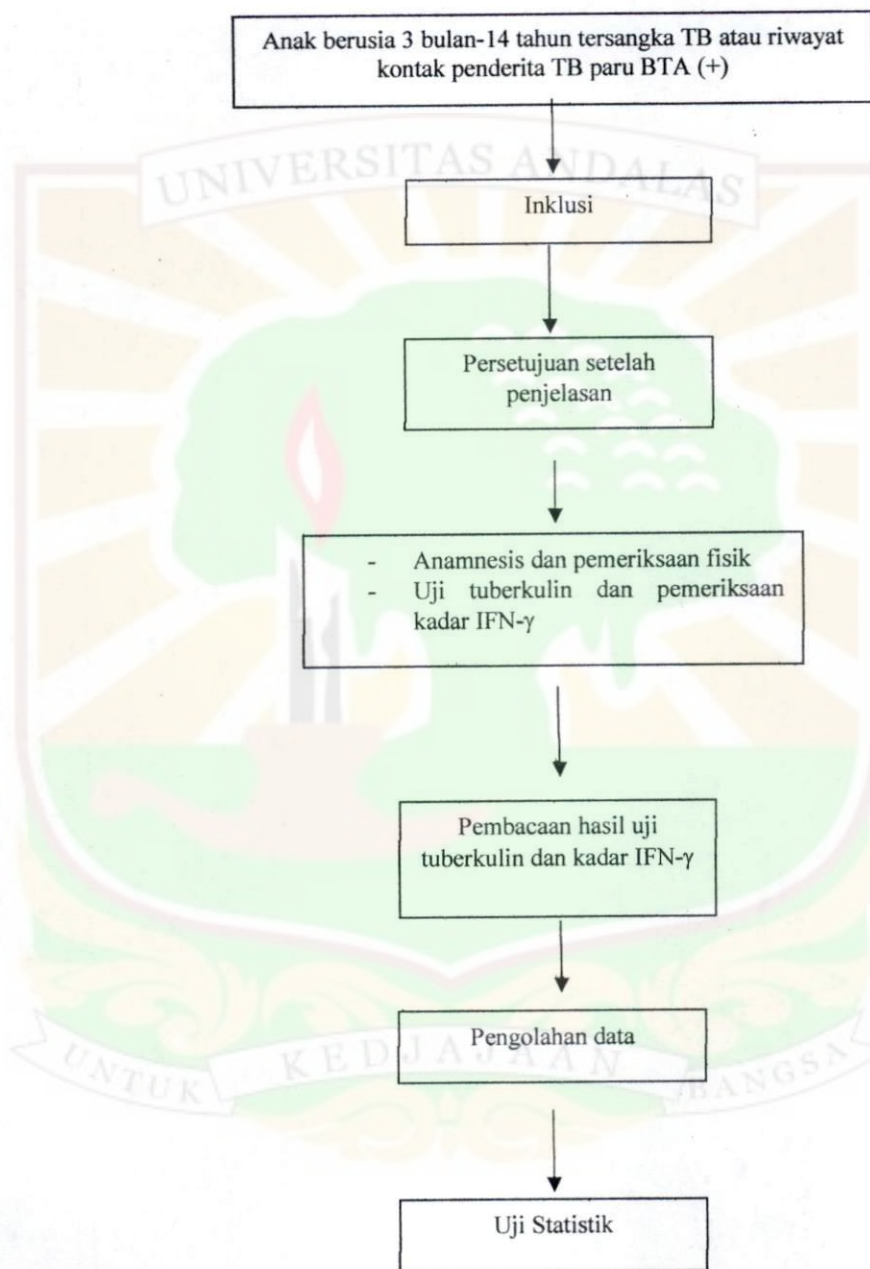
b. Pemeriksaan kadar IFN- $\gamma$

Pengambilan spesimen darah dilakukan secara aseptik berupa aspirasi darah perifer. Diambil darah melalui vena perifer sebanyak  $\pm 2,5$  ml oleh tenaga terlatih. Darah tersebut kemudian dicampur dengan *ficoll hypaque* sama banyak, disentrifus 5000 rpm selama 15 menit. Bagian yang terdapat di tengah tabung adalah *buffy coat* yang mengandung banyak sel limfosit dan monosit. Diambil bagian *buffy coat* dan dihitung konsentrasi limfosit yang didapat. Kemudian sel limfosit tersebut diinduksi dengan *crude* protein *M. Tb*. 100 ul limfosit konsentrasi  $5 \times 10^5$  dimasukkan ke dalam plat kultur yang telah berisi medium RPMI komplet. Ditambahkan 100 ul *crude* protein *M. Tb* dengan konsentrasi 0.5 ug/ml. Plat kultur diinkubasi selama 7 hari pada inkubator CO<sub>2</sub> suhu 37°C. Setelah 7 hari, supernatan diambil dan

diukur kadar IFN- $\gamma$  menggunakan Elisa Reader. Plat ditempel dengan human IgG anti IFN- $\gamma$  dan diinkubasi semalam. Keesokan harinya plat dicuci dan dimasukkan 100 ul sampel supernatan, diinkubasi 2 jam. Selanjutnya ditambahkan 100 ul antibodi sekunder, human anti IgG yang terikat dengan biotin. Ditambahkan lagi 100 ul Streptavidin alkali fosfatase, inkubasi 2 jam. Reaksi diakhiri dengan penambahan substrat 50 ul pNPP dan inkubasi 1 jam. Baca dengan Elisa Reader pada panjang gelombang 260 nm. Konsentrasi IFN- $\gamma$  dihitung dengan kurva standar. Setelah 7 hari, supernatan diambil dan diukur kadar IFN- $\gamma$  menggunakan Elisa Reader.



#### 4. 8. Alur Penelitian





#### 4.9. Implikasi Etik pada manusia

Etika penelitian pada manusia didasarkan pada protokol penggunaan manusia sebagai objek penelitian dan disahkan oleh komite etik (dalam hal ini dari komite etik penelitian RS. DR. M. Djamil Padang).

#### 4.10. Analisis data

Semua data yang diperoleh dicatat dalam formulir laporan penelitian yang telah disiapkan kemudian dimasukkan ke dalam *data base* komputer menggunakan program SPSS versi 13.0. Setiap variabel yang diperiksa disajikan secara deskriptif dalam bentuk tabel. Dilakukan analisis hubungan antara beberapa variabel dengan hasil pemeriksaan uji tuberkulin dan kadar IFN- $\gamma$  dengan uji statistik *Chi-square*, kemudian dilakukan uji kesesuaian dengan uji *kappa* antara uji tuberkulin dan kadar IFN- $\gamma$ , dengan penggolongan sebagai berikut (Vierra, Garret, 2005):

- a.  $<0$  : kemungkinan kesesuaian sangat rendah
- b. 0.01-0.2 : kesesuaian rendah
- c. 0.21-0.4 : kesesuaian cukup
- d. 0.41-0.6 : kesesuaian sedang
- e. 0.61-0.8 : kesesuaian tinggi
- f. 0.81-0.99 : hampir memiliki kesesuaian sempurna

#### 4.11. Definisi Operasional

- Anak Tersangka TB: anak usia 3 bulan-14 tahun yang memiliki salah satu atau lebih gejala sebagai berikut:
  - riwayat kontak penderita TB paru BTA (+)

- batuk >3 minggu
  - demam >2 minggu
  - limfadenopati
- Anak dengan kontak TB: anak usia 3 bulan-14 tahun yang tinggal serumah selama 12 minggu atau lebih dengan penderita TB paru BTA (+).
  - Penderita TB paru BTA (+): penderita TB berumur lebih dari 15 tahun dengan pemeriksaan BTA positif pada rekam medis.
  - Umur: umur subyek saat penelitian ditentukan berdasarkan tanggal lahir sampai dengan hari ulang tahun terakhir. Dikelompokkan menjadi 3, yaitu
    - a. <5 tahun
    - b. 5-10 tahun
    - c. >10 tahun
  - Status gizi: keadaan gizi subyek saat penelitian menggunakan baku standar Center of Disease Control (CDC) 2000 berdasarkan berat badan (BB) per panjang badan (PB)/tinggi badan (TB). Dikelompokkan menjadi 2, yaitu
    - a. Gizi baik : BB berbanding PB/TB  $\geq 90\%$ -<110% P<sub>50</sub> CDC 2000
    - b. Gizi kurang: BB berbanding PB/TB 70%-<90% P<sub>50</sub> CDC 2000
  - Uji tuberkulin: metode untuk mengidentifikasi adanya infeksi M.tb memakai 2 TU *purified protein derivate of tuberculin* (PPD) RT 23.
  - Scar BCG: parut yang timbul pada lengan kanan atas sebagai tanda telah imunisasi BCG.
  - *Crude protein* merupakan protein yang didapatkan dari lisis M.tb.

- ELISA merupakan suatu prosedur untuk mendeteksi aktivitas suatu protein menggunakan antibodi monoklonal yang dilabel dengan enzim. Deteksi dilakukan dengan memberikan substrat yang spesifik dengan enzim tersebut.
- Antibodi monoklonal adalah antibodi yang spesifik terhadap protein tertentu yang berasal dari 1 klon hibridoma penghasil.
- Supernatan merupakan cairan sisa kultur sel yang mengandung bahan-bahan yang dikeluarkan oleh sel yang bersangkutan.
- IFN- $\gamma$  adalah suatu sitokin pro-inflamasi yang dihasilkan oleh klon sel T, yang berperan untuk aktivasi makrofag.
- Uji IFN- $\gamma$  spesifik  
Menggunakan metode *Interferon Gamma Release Assay* (IGRA) menggunakan *QuantiFeron®-TB*, dihitung dari kurva standar yang disusun dari nilai konsentrasi IFN- $\gamma$ . Pengambilan darah vena dilakukan sebelum uji tuberkulin. Kadar IFN- $\gamma$  dinyatakan dalam IU/ml. Dikatakan positif jika TB antigen dikurangi nil  $\geq 25\%$  nil.

## BAB V

### HASIL PENELITIAN

Penelitian dilakukan di poliklinik anak RS. dr. M. Djamil Padang pada bulan Februari 2012 sampai bulan November 2012 dan berdasarkan penghitungan besar sampel didapatkan jumlah sampel yang diperlukan sebanyak 34 orang. Tidak ada sampel yang dieksklusi. Pada sampel dilakukan pemeriksaan sesuai prosedur penelitian.

#### 5.1 Karakteristik Penelitian

Karakteristik sampel penelitian dapat dilihat pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Karakteristik sampel

Karakteristik	n	%
Jenis kelamin		
Laki-laki	20	58.8
Perempuan	14	41.2
Umur		
<5 tahun	13	38.2
5-10 tahun	17	50.0
>10 tahun	4	11.8
Status gizi		
Baik	6	17.6
Kurang	28	82.4
Skar BCG		
Ada	23	67.6
Tidak ada	11	32.4

Pada tabel 5.1 tampak lebih dari separuh sampel penelitian adalah laki-laki yaitu sebanyak 20(58,8%) sampel. Lebih dari separuh sampel berumur 5 sampai 10

tahun yaitu sebanyak 17(50%) orang, diikuti kelompok umur <5 tahun sebanyak 13 (38,2%) orang dan umur >10 tahun sebanyak 4(11.8%) orang. Sebagian besar sampel penelitian memiliki status gizi kurang yaitu 28(82,4%) sampel. Subyek penelitian yang tidak memiliki skar BCG sebanyak 11(32,4%) sampel lebih sedikit dibandingkan dengan subyek yang memiliki skar BCG yaitu 23(67,6%) sampel.

## 5.2 Hasil Uji Tuberkulin

Pada tabel 5.2 tampak sebagian besar sampel memiliki uji tuberkulin negatif sebanyak 25(73.5%) sampel sedangkan uji tuberkulin positif hanya pada 9(26,5%) sampel, terdiri dari 4(44.4%) sampel berumur <5 tahun dan kelompok umur 5-10 tahun, sementara kelompok umur >10 tahun hanya 1(11.2%) sampel.

Tabel 5.2. Hasil uji tuberkulin berdasarkan umur

Umur	Uji tuberkulin		n (%)	p
	Positif (%)	Negatif (%)		
< 5 tahun	4(44,4)	9(36.0)	13(38,2)	0.203
5tahun-10tahun	4(44,4)	13(52.0)	17(50.0)	
>10tahun	1(11,2)	3(12.0)	4(11,8)	
Jumlah	9(100)	25(100)	34(100)	

Pada 23 sampel dengan skar BCG positif, didapatkan 6(26.1%) sampel memiliki hasil uji tuberkulin positif, sementara sebanyak 3 (27.3%) sampel tanpa skar BCG memiliki uji tuberkulin positif (tabel 5.3).

Tabel 5.3. Hasil uji tuberkulin berdasarkan skar BCG

Skar BCG	Uji tuberkulin		n (%)	p
	Positif(%)	Negatif (%)		
Ada	6 (26.1)	17 (73.9)	23(100)	0.003
Tidak ada	3(27.3)	8 (72.7)	11(100)	
Jumlah	9(26.5)	25(73.5)	34(100)	

### 5.3 Hasil uji IFN- $\gamma$

Pada tabel 5.4 tampak lebih dari separuh sampel (52.9%) memiliki uji IFN- $\gamma$  negatif, sedangkan hasil uji IFN- $\gamma$  positif didapatkan pada 16(47.1%) sampel, terdiri dari 6(37.5%) sampel kelompok umur <5 tahun, 7 (43,75%) sampel kelompok umur 5-10 tahun dan 3(18.75%) sampel kelompok umur >10 tahun.

Tabel 5.4 Hasil uji IFN- $\gamma$  berdasarkan umur

Umur	uji IFN- $\gamma$		n (%)	p
	Positif (%)	Negatif (%)		
<5 tahun	6(37,5)	7(38,8)	13(38,23)	0.166
5tahun-10 tahun	7(43,75)	10(55,6)	17(50)	
>10tahun	3(18,75)	1(5,6)	4(11,76)	
Jumlah	16(100)	18(100)	34 (100)	

Sebanyak 9(56.25%) sampel dengan skar BCG positif memiliki hasil uji IFN- $\gamma$  positif, sementara tanpa skar BCG didapatkan uji IFN- $\gamma$  positif pada 7(20.6%) sampel (tabel 5.5).

Tabel 5.5 Hasil uji IFN- $\gamma$  berdasarkan skar BCG

Skar BCG	Uji IFN- $\gamma$		n (%)	p
	Positif (%)	Negatif (%)		
Ada	9(39.1)	14(60.9)	23(100)	0.166
Tidak ada	7(63.6)	4(36.4)	11(100)	
Jumlah	16(47.1)	18(52.9)	34(100)	

### 5.4 Kesesuaian uji tuberkulin dan IFN- $\gamma$

Pada tabel 5.6 tampak hasil kedua uji negatif didapatkan pada 11(61.1%) sampel dan kedua uji positif pada 2(12.5%) sampel. Perbandingan hasil uji IFN- $\gamma$  dengan uji tuberkulin menunjukkan kesesuaian 38.23%. Hasil uji *kappa* 0.27

menunjukkan kesesuaian cukup hasil uji tuberkulin dengan IFN- $\gamma$  secara keseluruhan.

Tabel 5.6. Perbandingan hasil uji tuberkulin dengan uji IFN- $\gamma$

Uji tuberkulin	Uji IFN- $\gamma$		n (%)	Kesesuaian (%)	Kappa	ket
	Positif(%)	Negatif(%)				
Positif	2(12.5)	7(38.9)	9(26.5)	38.23	0.27	kesesuaian cukup
Negatif	14(87.5)	11(61.1)	25(73.5)			
Jumlah	16 (100)	18(100)	34(100)			

Pada 23 sampel dengan skar BCG, didapatkan 9(52.9%) sampel dengan hasil kedua uji negatif, 1(16.7%) sampel dengan hasil kedua uji positif dan 5(83.3%) sampel dengan hasil uji IFN- $\gamma$  negatif, tetapi uji tuberkulin positif. Perbandingan hasil uji IFN- $\gamma$  dengan uji tuberkulin menunjukkan kesesuaian 43.48%. Hasil uji *kappa* 0.26 menunjukkan kesesuaian cukup hasil uji IFN- $\gamma$  dengan uji tuberkulin pada sampel dengan skar BCG (tabel 5.7).

Tabel 5.7 Hasil uji tuberkulin dengan kadar IFN- $\gamma$  berdasarkan skar BCG

Uji tuberkulin	Kadar IFN- $\gamma$		n(%)	Kesesuaian (%)	Kappa	ket
	Positif(%)	Negatif(%)				
Ada skar BCG						
Uji tuberkulin positif	1(16.7)	5(83.3)	6(100)	43.48	0.26	kesesuaian cukup
Uji tuberkulin negatif	8(47.1)	9(52.9)	17(100)			
Jumlah	9(39.1)	14(60.9)	23(100)			
Tidak ada skar BCG						
Uji tuberkulin positif	1(33.3)	2(66.7)	3(100)	27.27	0.294	kesesuaian cukup
Uji tuberkulin negatif	6(75)	2(25)	8(100)			
Jumlah	7(63.6)	4(36.4)	11(100)			

Pada 11 sampel tanpa skar BCG, didapatkan 2(25%) sampel dengan hasil kedua uji negatif, 1(33.3%) sampel dengan hasil kedua uji positif dan 2 (66.7%)

sampel dengan hasil uji IFN- $\gamma$  negatif, tetapi uji tuberkulin positif. Perbandingan hasil uji IFN- $\gamma$  dengan uji tuberkulin menunjukkan kesesuaian 27.27%. Hasil uji *kappa* 0.29 menunjukkan kesesuaian cukup hasil uji IFN- $\gamma$  dengan uji tuberkulin pada sampel tanpa skar BCG (tabel 5.7).





## BAB VI

### PEMBAHASAN

Diagnosis TB pada anak masih menjadi masalah karena tanda dan gejala yang tidak spesifik, populasi basil TB pada anak yang sakit TB rendah dan masih rendahnya nilai uji diagnostik yang ada sehingga dibutuhkan sarana diagnosis baru yang lebih unggul. Uji IFN- $\gamma$  sebagai alternatif uji tuberkulin secara teori mempunyai keunggulan, karena tidak terpengaruh oleh vaksinasi BCG dan hampir semua infeksi mikobakterium lain.

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan kadar IFN- $\gamma$  dengan uji tuberkulin sehingga dapat diketahui adanya pengaruh vaksinasi BCG dan infeksi MNT pada uji tuberkulin. Baku emas untuk diagnosis infeksi TB tidak ada, sehingga sensitivitas dan spesifisitas dari kedua uji tidak mungkin didapatkan, namun uji IFN- $\gamma$  secara umum lebih spesifik dibandingkan uji tuberkulin. (Pai M, Riley LW, Colford, 2004). Secara umum, jika didapatkan hasil uji IFN- $\gamma$  negatif dan uji tuberkulin positif, maka dikatakan uji IFN- $\gamma$  lebih spesifik, sedangkan jika hasil yang didapatkan sebaliknya, dikatakan uji IFN- $\gamma$  lebih sensitif. (Pai, Riley, Colford, 2004; Anderson, Williams, Brown, Newton, Simsova, Nicol et al, 2006)

Penelitian ini merupakan suatu penelitian *cross sectional* pada populasi semua anak usia 3 bulan-14 tahun tersangka TB atau memiliki kontak erat dengan penderita TB paru BTA (+) yang datang ke poliklinik anak RS. Dr. M. Djamil Padang yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Pada penelitian ini didapatkan sebanyak 20 (58.8%) anak laki-laki hampir sama dengan penelitian

Detjen pada tahun 2007 di Jerman yaitu 57%. (Detjen, Keil, Roll, Hauer, Mauch, Wahn, Magdorf, 2007). Sementara Dogra dkk tahun 2007 di India melaporkan proporsi laki-laki dan perempuan berimbang dengan rasio 1:1 dengan sampel terbanyak adalah kelompok umur 1-4 tahun sebanyak 43(40%) sampel dan gizi kurang sebanyak 60 sampel (57%). (Dogra, Narang, Mendiratta, Chaturvedi, Reingold, Colford, dkk, 2007). Penelitian ini didapatkan sampel terbanyak pada kelompok umur 5-10 tahun sebanyak 17(50%) sampel dan status gizi terbanyak gizi kurang sebanyak 28(82.4%) sampel. Hasil ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Singh tahun 2005 di India mendapatkan gizi kurang sebanyak 38.6%.(Singh, Mynak, Kumar, Mathew, Jindal, 2005). Data seluruh kasus TB anak pada tujuh rumah sakit Pusat Pendidikan di Indonesia selama 5 tahun (1998-2002) kelompok umur terbanyak 1-5 tahun (42.9%), sedangkan umur <1 tahun didapatkan 16.5%.(dikutip dari Kartasasmita, 2009)

Pada penelitian ini didapatkan hasil uji tuberkulin positif dan uji IFN- $\gamma$  positif ditemukan hanya pada 2(12.5%) sampel dengan nilai kappa ( $\kappa$ ) 0.27 (kesesuaian cukup). Dogra, dkk tahun 2007 di India menemukan hasil kedua uji positif pada 11 sampel dengan kesesuaian tinggi ( $\kappa=0.73$ ). (Dogra, Narang, Mendiratta, Chaturvedi, Reingold, Colford dkk, 2007). Hasil uji IFN- $\gamma$  yang tidak sesuai dengan uji tuberkulin didapatkan pada 21 sampel. Pada 7 sampel didapatkan hasil uji tuberkulin positif dan uji IFN- $\gamma$  negatif. Ketidaksesuaian hasil uji tersebut pada beberapa penelitian, disebabkan karena PPD yang digunakan sebagai antigen pada uji tuberkulin, selain didapatkan pada *M.tb* dan substrain BCG, juga didapatkan pada *Mycobacterium bovis* dan beberapa MNT. (Pai, Riley,

Colford, 2004; Brodie, Schulger, 2005). Paparan MNT dapat menyebabkan hasil positif palsu pada uji tuberkulin. (Farhat, Greenaway, Pai, Menzies, 2006)

Ketidaksesuaian kedua uji sebaliknya didapatkan pada 14 sampel dengan hasil uji tuberkulin negatif dan uji IFN- $\gamma$  positif. Penelitian yang dilakukan oleh Whalen tahun 2006 mendapatkan ketidaksesuaian kedua hasil uji tersebut disebabkan karena uji IFN- $\gamma$  memberi respons lebih awal dibanding uji tuberkulin. (Whalen, Turner, Elwood, Schulzer, FitzGerald, 2002). Menurut Anderson ketidaksesuaian kedua uji tersebut disebabkan karena adanya perbedaan kemampuan strain M.tb dalam menginduksi sitokin yang berperan pada hipersensitifitas tipe lambat. (Anderson, Williams, Brown, Newton, Simsova, Nicol et al, 2006)

Pada penelitian ini didapatkan uji tuberkulin positif sebanyak 9(26.5%) sampel dan uji IFN- $\gamma$  positif sebanyak 16(47.1%) sampel. Sebanyak 4(44,4%) sampel dengan uji tuberkulin positif berumur <5 tahun. Hasil uji tuberkulin positif dengan jumlah yang sama juga didapatkan pada sampel kelompok umur 5 tahun-10 tahun. Hasil uji IFN- $\gamma$  positif didapatkan pada 6(37,5%) sampel pada kelompok umur <5 tahun, 7(43,75%) sampel kelompok umur 5-10 tahun dan pada 3(18,75%) sampel kelompok umur >10 tahun. Maturitas makrofag dan sel limfosit T dipengaruhi oleh umur. Kedua uji melibatkan kedua sel tersebut. (ATS, 2000). Kemampuan kemotaksis monosit pada anak juga dipengaruhi umur. Pada anak kurang dari 5 tahun, kemampuan kemotaksis monosit masih rendah, dan masih kurang hingga usia 10 tahun. (Klein, Fiescher, Gardi, Gard, Biberstein, Rich dkk, 1997)

Pengaruh vaksinasi BCG terhadap uji tuberkulin telah dilaporkan dari beberapa penelitian. Pengaruh tersebut tidak hanya disebabkan karena adanya kesamaan antigen saja, tetapi juga umur saat vaksinasi diberikan serta jarak waktu antara imunisasi BCG dengan uji tuberkulin. (Menzies, Pai, Comstock, 2007). Farhat dkk tahun 2006 menyatakan bahwa pada bayi yang diberikan imunisasi BCG hanya menyebabkan hasil positif palsu pada uji tuberkulin sebesar 6,3% dan jika uji tuberkulin dilakukan pada usia lebih dari 10 tahun, hasil positif palsu hanya 1%, tetapi jika vaksinasi BCG diberikan pada umur lebih dari 2 tahun, akan memberikan hasil positif palsu pada uji tuberkulin sebesar 40% dan 10% pada uji tuberkulin yang dilakukan pada usia lebih dari 10 tahun. (Farhat, Greenaway, Pai, Menzies, 2006). Wang pada tahun 2002 melaporkan bahwa vaksinasi BCG masih mempengaruhi uji tuberkulin hingga 15 tahun setelah vaksinasi. (Wang et al, 2007)

Status imunisasi BCG pada penelitian ini seperti juga pada penelitian sebelumnya, didasarkan pada adanya parut BCG, meskipun parut BCG tidak ditemukan pada sekitar 6-17% anak yang pernah mendapat vaksinasi BCG. (Guwatudde, Nakakeeto, Jones-Lopez, Maganda, Chiunda, Mugerwa, dkk, 2003)

Beberapa penelitian melaporkan kesesuaian hasil kedua uji yang lebih rendah pada anak dengan skar BCG. Penelitian yang dilakukan Nakaoka di Nigeria mendapatkan hasil kesesuaian sedang diantara kedua uji pada 90% sampel dengan parut BCG, yaitu kesesuaian 74%,  $\kappa=0,498$ ;  $p<0,05$ . (Nakaoka, Lawson, Squire, Coulter, Ravn, Brock, dkk, 2006). Sementara penelitian yang dilakukan oleh Dogra tahun 2007 di India didapatkan tidak ada perbedaan kedua hasil uji

pada kelompok dengan atau tanpa skar BCG. Kesesuaian tinggi (94%,  $\kappa=0.63\%$ ) didapatkan pada kelompok dengan parut BCG dan pada kelompok tanpa parut BCG didapatkan kesesuaian yang hampir sempurna (100%,  $\kappa=1$ ). (Dogra, Narang, Mendiratta, Chaturvedi, Reingold, Colford, dkk, 2007). Beberapa penelitian gagal mengungkapkan efek BCG pada uji tuberkulin atau uji IFN- $\gamma$ . (Conell, Ritz, Paxton, Buttery, Curtis, Ranganathan; Tsouris, Austin, Toro, Coetzee, Weyer, Stein, et al, 2006; Hill, Brookes, Fox, Fielding, Jeffries, Jackson-Sillah, et al, 2004).

Pada penelitian ini, didapatkan hasil uji tuberkulin dengan uji IFN- $\gamma$  pada kelompok tanpa skar BCG, secara keseluruhan tidak menunjukkan perbedaan, dengan kesesuaian cukup (43,48%,  $\kappa= 0,26$ ). Hasil yang sama juga ditemukan pada kelompok yang memiliki skar BCG yaitu kedua hasil uji dengan kesesuaian cukup (27,27%,  $\kappa= 0,29$ ).

## BAB VII

### PENUTUP

#### 7.1 KESIMPULAN

1. Hasil uji tuberkulin tidak berhubungan dengan umur
2. Hasil uji IFN- $\gamma$  tidak berhubungan dengan umur
3. Hasil uji tuberkulin berhubungan dengan skar BCG
4. Hasil uji IFN- $\gamma$  tidak berhubungan dengan skar BCG
5. Terdapat kesesuaian cukup hasil uji tuberkulin dengan uji IFN- $\gamma$  pada sampel dengan dan tanpa skar BCG

#### 7.2 SARAN

1. Perlu penelitian selanjutnya mengenai hubungan uji tuberkulin dengan uji IFN- $\gamma$  dengan jumlah sampel yang lebih besar
2. Belum perlu dilakukan uji IFN- $\gamma$  untuk mendiagnosis infeksi TB pada anak tersangka TB

## DAFTAR PUSTAKA

- American Academy of Pediatrics, 2002. Standardization of Mantoux test. *Indian Pediatrics* 39:404-6
- American Thoracic Society, 2000. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adult and children. *Am J Respir Crit Care Med* 161:1376-95
- Anderson ST, Williams AJ, Brown JR, Newton SM, Simsova M, Nicol MP, et al, 2006. Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* undetected by tuberkulin skin testing. *Am J Respir Crit Care Med* 173: 1038-42
- Brodie D, Schulger NW, 2005. The diagnosis of tuberculosis. *Clin Chest Med* 26: 247-71
- Choi HS et al, 2002. Analysis of nitric oxide synthase and nitrotyrosine in human pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 166:178-86
- Condos R, Rom WN, 2004. Cytokine response in tuberculosis. In: Rom WN, Garay SM, editors. *Tuberculosis* 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 285-99
- Conell TG, Ritz N, Paxton GA, Buttery JP, Curtis N, Ranganathan SC, 2007. A three-way comparison of tuberculin skin testing, quantiFERON-TB gold and T-SPOT TB in children. *PLoS ONE* e262:1-7
- Cowley SC, Elkins KE, 2003. CD4<sup>+</sup> cells mediate IFN- $\gamma$  independent control of *Mycobacterium tuberculosis* infection both in vitro and in vivo. *J Immunol* 171:4689-99
- Desem N, Jones SL, 1998. Development of a human gamma interferon enzyme immunoassay and comparison with tuberculin skin testing for detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Clin Diagn Lab Immunol* 5:531-6
- Detjen AK, Keil T, Roll S, Hauer B, Mauch H, Wahn U, Magdorf K, 2007. Interferon-g release assay improve the diagnosis of tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease in children in a country with a low incidence of tuberculosis. *Clinical Infectious Diseases* 45: 322-8
- Dogra S, Narang P, Mendiratta DK, Chaturvedi P, Reingold AL, Colford JM, dkk, 2007. Comparison of a whole blood interferon- $\gamma$  assay with tuberculin skin testing for detection on tuberculosis infection in hospitalized children in rural India. *J infect* 54: 267-76

- Ehrt S et al, 2001. Reprogramming of the macrophage transcriptome in response to interferon- $\gamma$  and *Mycobacterium tuberculosis*: signaling roles of nitric oxide synthase-2 and phagocyte oxidase. *J Exp Med* 194:1123-39
- Ernst JD, Nunez GT, Banaiee N, 2007. Genomics and the evolution, pathogenesis and diagnosis of tuberculosis. *J Clin Invest* 117:1738-45
- Farhat M, Greenaway C, Pai M, Menzies D, 2006. False-positive tuberculin skin test: what is the absolute effect of BCG and non tuberculous mycobacteria? *Int J Tuberc Lung Dis* 10: 1192-204
- Feng CG et al, 2000. Up-regulation of VCAM-1 and differential expansion of  $\alpha$  integrin-expressing T lymphocytes are associated with immunity to pulmonary *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Immunol* 164:4853-60
- Guwatudde D, Nakakeeto M, Jones-Lopez EC, Maganda A, Chiunda A, Mugerwa RD, dkk, 2003. Tuberculosis in household contact of infectious cases in kampala, Uganda. *Am J Epidemiol* 158: 887-98
- Grossman M. Tuberculosis. Dalam: Rudolph AM, penyunting. Rudolph's textbook of Pediatrics. Edisi ke-20. California: Appeton and Lange, 1995;1: 688-97
- Harley JP, Prescott LM. Laboratory exercise in microbiology. 5<sup>th</sup>ed. Philadelphia: McGraw Hill
- Hill PC, Brookes RH, Fox A, Fielding K, Jeffries DJ, Jackson-Sillah D, et al, 2004. Large-scale evaluation of enzyme-linked immunospot assay and skin test for diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection against a gradient of exposure in The Gambia. *Clin Infect Dis* 38:966-73
- Inselman LS, Kendig EL. Tuberculosis. Dalam: Kendig's disorder of the respiratory tract in children. Edisi ke-6. Philadelphia: Saunders, 1998;883-920
- Iseman MD. Immunity and pathogenesis. In: Iseman MD, editor. A clinician's guide to tuberculosis. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2000;63-96
- Jawetz, Melnick, Adelberg. *Mycobacterium tuberculosis*. Dalam: Brooks GF, penyunting. Medical microbiology. Edisi ke-20. California: Appleton and Lange, 1995;303-5



- Kanaya AM, Glidden DV, Chambers HF, 2001. Identifying pulmonary tuberculosis in patient with negative sputum smear result. *Chest* 120:349-55
- Kartasasmita CB, 2009. Epidemiologi tuberculosis. *Sari Pediatri* 11(2):124-28
- Kaufman SHE, 2002. Protection against tuberculosis: cytokines, T cells and macrophages. *Ann Rheum Dis* 61(2):54-8
- Kawai T et al, 2000. Selective diapedesis of Th1 cells induced by endothelial cell RANTES. *J Immunol* 163:3269-78
- Kenyorini, Suradi, Surjanto E, 2006. Uji tuberkulin. *Jurnal Tuberkulosis Indonesia* 3(2):1-3
- Klein RB, Fiescher TJ, Gardi SE, Gard SE, Biberstein M, Rich KC dkk, 1997. Decreased mononuclear and polymorphonuclear chemotaxis in human newborns, infants, and young children. *Pediatrics* 60: 467-72
- Kusuma CHMS, 2007. Diagnostik tuberculosis baru. *Sari Pediatri* 8(4): 143-151
- Mattheas L, Steinmuller C, Ulliman GF, 1994. Pulmonary macrophage. *Eur Respir J* 7: 1683-4
- Mazurek GH, Vilarino ME, 2002. Guidelines for the using the Quantiferon-TB test for diagnosing test latent Mycobacterium tuberculosis infection. *MMWR* 51:1-5
- Menon MPS, 1997. A new look at the immunology of tuberculosis. *Ind J Tub* 44: 1-8
- Menzies D, Pai M, Comstock G, 2007. Meta-analysis: new test for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. *Ann Intern Med* 146: 340-54
- Nakaoka H, Lawson L, Squire SB, Coulter B, Ravn P, Brock I, dkk, 2006. Risk for tuberculosis among children. *Emerg Infect Dis* 12: 1383-8
- Pai M, Riley LW, Colford Jr JM, 2004. Interferon gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 4:761-76
- Rahajoe NN, Basir D, Makmuri MS, Kartasasmita CB. UKK Respirologi PP IDAI. Pedomana nasional tuberculosis anak. Edisi ke-2. 2007; 2:1-5

- Robinson N et al, 2007. Mycobacterial gene involved in synthesis of an outer cell envelope lipid is a key factor in prevention of fagosome maturation. *Infect Immun* 75:581-91
- Schulger NW, 1998. The host immune response to tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 679-91
- Shen et al, 2009. Peptide-based antibody detection for tuberculosis diagnosis. *Clin Vacc Immunol* 16: 49-54
- Singh M, Mynak ML, Kumar L, Mathew JL, Jindal SK, 2005. Prevalence and risk factors for transmission of infection among children in household contact with adult having pulmonary tuberculosis. *Arch Dis Child* 90: 624-8
- Smith I, 2003. *Mycobacterium tuberculosis*: pathogenesis and molecular determinants of virulence. *Clin Microbiol Rev* 16(3):463-96
- Starke JR. Tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*). Dalam: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, penyunting. *Nelson textbook of pediatrics*. Edisi ke-17. USA: Saunders, 2007; 847-50
- Stuart RL et al, 2000. Effect of anti-tuberculosis treatment on the tuberculin response in the tuberculin skin test (TST) positive healthcare workers and patients with tuberculosis. *Int J Tuberc Lung* 4:555-61
- Subagyo A, Aditama TY, Sutoyo DK, Partakusuma LG, 2006. Pemeriksaan interferon gamma dalam darah untuk deteksi infeksi tuberkulosis. *Jurnal Tuberkulosis Indonesia* 3(2):6-19
- Tsouris SJ, Austin J, Toro P, Coetzee D, Weyer K, Stein Z, et al, 2006. Results of a tuberculosis-specific IFN- $\gamma$  assay in children at high risk for tuberculosis infection. *Int J Tuberc Lung Dis* 10:939-41
- Utji R, Harun H. Kuman tahan asam. Dalam: Syarurahman A, Chatim A, Soebandrio AWK, penyunting. *Buku ajar mikrobiologi kedokteran*. Edisi revisi. Jakarta: Binarupa Aksara, 1994;191-9
- van Crevel et al, 2002. Innate immunity to *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Microbiol Rev* 15:294-309
- Viera AJ, Garrett JM, 2005. Understanding interobserver agreement: the kappa statistic. *Fam Med* 37(5):360-3
- Wang et al, 2007. Diagnosis of tuberculosis by enzyme-linked immunospot assay for interferon- $\gamma$ . *Emerging Infectious Diseases* 13: 553-8

Whalen L, Turner MO, Elwood RK, Schulzer M, FitzGerald JM, 2002. A meta analysis of the effect of Bacille Calmette Guerin vaccination on tuberculin skin test measurements. *Thorax* 57:804-7

World Health Organization, 2011. Tuberculosis control in south-east asia region and western pacific region. WHO Report.





DEPARTEMEN KESEHATAN RI  
BLU RS. DR. M. JAMIL PADANG  
PANITIA ETIK PENELITIAN KESEHATAN  
Alamat : Jl. Perintis Kemerdekaan Padang 25127

Nomor : PE.28.2012

**KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK**  
**ETHICAL CLEARANCE**

Panitia etik penelitian BLU RSUP Dr. M. Djamil Padang dalam upaya melindungi hak azazi dan kesejahteraan subjek penelitian kedokteran telah mengkaji dengan teliti proposal dengan judul

The committee of the medical research ethics of the Dr. M. Djamil Hospital with regards of the protection of human rights and welfare of subjects in medical research has carefully review the proposal entitle :

**Perbandingan Uji Tuberkulin dengan Kadar Interferon Gamma  
pada Kultur Sel Limfosit Anak Tersangka TB**

Nama peneliti utama : Lita Farlina  
Name of the principal investigator

Nama institusi : PPDS Ilmu Kesehatan Anak  
FK UNAND

Name of the institution

Telah menyetujui proposal tersebut diatas  
Approved the above mentioned proposal

Padang, 30 Juli 2012

Ketua,  
Chairman,

**Prof. Dr. dr. H. Darwin Amir, SpS(K)**  
NIP : 194811201978071001

## Lampiran 1

### PENJELASAN SEBELUM PERSETUJUAN

#### “PERBANDINGAN UJI TUBERKULIN DENGAN KADAR INTERFERON GAMMA PADA KULTUR SEL LIMFOSIT ANAK TERSANGKA TB”

Bapak/Ibu yang terhormat, proses ini dikenal sebagai "memberi informasi untuk mendapat persetujuan (*information of consent*).” Formulir ini memberi informasi tentang manfaat dan risiko bila anak anda mengikuti penelitian ini. Sebelum Bapak/Ibu menyetujui untuk ikut serta dalam penelitian ini, mohon untuk membaca dengan seksama dan memahami semua informasi yang ada di dalam lembaran berikut. Keikutsertaan anak anda dalam studi ini bukanlah suatu hal yang bersifat wajib. Bila ada sesuatu yang tidak dipahami atau bila Bapak/Ibu memerlukan informasi tambahan baik sebelum dan sesudah penelitian berlangsung, dapat segera meminta penjelasan lebih lanjut pada dokter peneliti.

#### Latar Belakang Penelitian

Infeksi tuberkulosis pada anak, terjadi karena penularan dari orang dewasa di lingkungannya. Di negara berkembang, risiko terjadinya infeksi TB pada anak yang kontak dengan penderita dewasa tuberkulosis sebesar 50-60%. Diagnosis tuberkulosis secara dini dan akurat sangat diperlukan supaya dapat menurunkan angka kesakitan dan kematian yang disebabkan penyakit ini. Uji tuberkulin yang selama ini telah digunakan untuk diagnosis tuberkulosis mempunyai spesifisitas yang kurang dan hasilnya dipengaruhi vaksinasi BCG, cara penyuntikan, efek penyuntikan berulang serta tingkat kekebalan tubuh. Sebagai pilihan lain, pada penelitian ini digunakan uji lain, yang disebut uji interferon gamma. Hasil uji ini pada orang dewasa lebih sensitif dan spesifik dibandingkan uji tuberkulin.

### **Tujuan dan Manfaat Penelitian**

Dengan penelitian ini diharapkan akan diketahui perbandingan hasil uji interferon gamma menggunakan bahan yang spesifik untuk kuman tuberkulosis dengan uji tuberkulin untuk mendeteksi infeksi tuberkulosis pada anak yang kontak dengan penderita tuberkulosis.

### **Apa yang akan anak Ibu/Bapak alami bila mengikuti penelitian ini?**

Bila anak Ibu/Bapak dicurigai menderita infeksi tuberkulosis, dimintakan persetujuan Ibu/Bapak kemudian ditentukan kriteria inklusi dan eksklusi. Selanjutnya bila anak Ibu/Bapak memenuhi kriteria inklusi dilakukan pemeriksaan fisik dan pengambilan bahan-bahan untuk pemeriksaan sebagai berikut:

- Sebagai prosedur rutin pada anak tersangka TB atau yang kontak dengan penderita tuberkulosis dilakukan uji tuberkulin yaitu dengan menyuntikkan komponen protein tuberkulosis ke dalam lapisan kulit
- Sebagai tambahan dalam penelitian ini, diambil darah sebanyak 2,5 cc untuk pemeriksaan kadar interferon gamma
- Setiap data yang didapat dicatat pada Lembar Pengumpul Data (LPD) untuk diolah lebih lanjut

### **Keuntungan**

1. Mendapatkan cara yang praktis dan tepat dalam mendiagnosis infeksi TB pada anak
2. Memberikan informasi mengenai kadar interferon gamma yang dapat dijadikan indikator ditemukan kuman TB, sehingga dapat menjadi bahan acuan klinisi dalam mendiagnosis TB anak secara tepat dan akurat
3. Pedoman baru dalam menanggulangi TB di masyarakat
4. Membantu pemerintah mengendalikan TB pada anak

**Risiko**

Sampai saat ini belum pernah dilaporkan adanya efek samping pemeriksaan uji interferon gamma. Pengambilan darah dapat menyebabkan perdarahan, sedang uji tuberkulin dapat menyebabkan reaksi lokal pada tempat suntikan berupa timbulnya gelembung atau luka, namun kemungkinannya sangat kecil.

**Kerahasiaan**

Seluruh informasi penelitian ini akan dijaga kerahasiaannya. Informasi yang akan digunakan untuk kepentingan analisis data, publikasi di jurnal/pertemuan ilmiah atau untuk kepentingan pihak lain yang berhubungan dengan penelitian ini hanya boleh disampaikan dalam bentuk inisial, sedangkan nama aslinya hanya diketahui oleh dokter peneliti. Hasil penelitian jika diinginkan dapat diketahui oleh Ibu/Bapak yang bersangkutan dengan menanyakannya kepada dokter peneliti.

**Siapakah yang mendanai penelitian ini?**

Penelitian ini didanai oleh peneliti sendiri. Ibu/Bapak tidak dikenakan biaya selama keperluan penelitian ini.

**Siapakah yang harus dihubungi jika ada pertanyaan?**

Jika Ibu/Bapak memiliki pertanyaan atau merasa tidak nyaman selama penelitian, Ibu/Bapak dapat segera menghubungi dokter peneliti. Ibu/Bapak dapat meminta informasi tambahan lainnya, dari dokter peneliti sebagai berikut:

**dr. Lita Farlina**

**Bagian Ilmu Kesehatan Anak**

**Fak. Kedokteran UNAND/RS.Dr. M. Djamil Padang**

**HP. 0878 95 373 273**

## Lampiran 2

### Persetujuan Ikut Penelitian (*Informed Consent*)

Saya yang bertanda tangan di bawah ini telah membaca informasi mengenai penelitian ini. Saya mengerti tujuan dan manfaat dari penelitian ini. Saya setuju untuk dilakukan segala tindakan yang disebutkan sebelumnya terhadap anak saya

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : .....  
Umur : ..... th  
Jenis Kelamin : Lk/Pr  
Alamat : .....  
Telepon : .....  
Bukti diri / KTP : .....

Adalah orangtua/wali dari:

Nama : .....  
Umur / kelamin : ..... tahun, laki-laki / perempuan\*)  
Alamat : .....  
Nomor rekam medis : .....

Dengan ini memberi izin anak saya untuk dapat mengikuti prosedur penelitian seperti yang disebutkan di atas.

Demikian surat ini saya buat untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Tanggal.....Bulan.....Tahun.....

...Padang, .....



Saksi I :

Saya yang menyatakan

Ayah/Ibu/Keluarga\*)penderita

.....

.....

Tanda tangan dan nama jelas

Tanda tangan dan nama jelas

Peneliti yang memberi penjelasan:

.....

Tanda tangan dan nama jelas

Keterangan :\*)coret yang tidak perlu



Lampiran 3

Formulir Penelitian

**“PERBANDINGAN UJI TUBERKULIN DENGAN KADAR INTERFERON  
GAMMA PADA KULTUR SEL LIMFOSIT ANAK TERSANGKA TB”**

1. No : .....
2. Nama : .....
3. Jenis kelamin : Lk/Pr\*
4. Umur\* :
  1. 3 bulan-4 tahun
  2. 5-9 tahun
  3. 10-14 tahun
5. Alamat lengkap : .....
6. No.telpon rumah/HP: .....
7. Berat badan : .....kg
8. Tinggi badan : .....cm
9. Status gizi\* :
  1. Baik
  2. Kurang
10. Ayah
  - Nama : .....
  - Umur : .....
  - Pendidikan : .....
  - Pekerjaan : .....
11. Ibu
  - Nama : .....
  - Umur : .....
  - Pendidikan : .....
  - Pekerjaan : .....

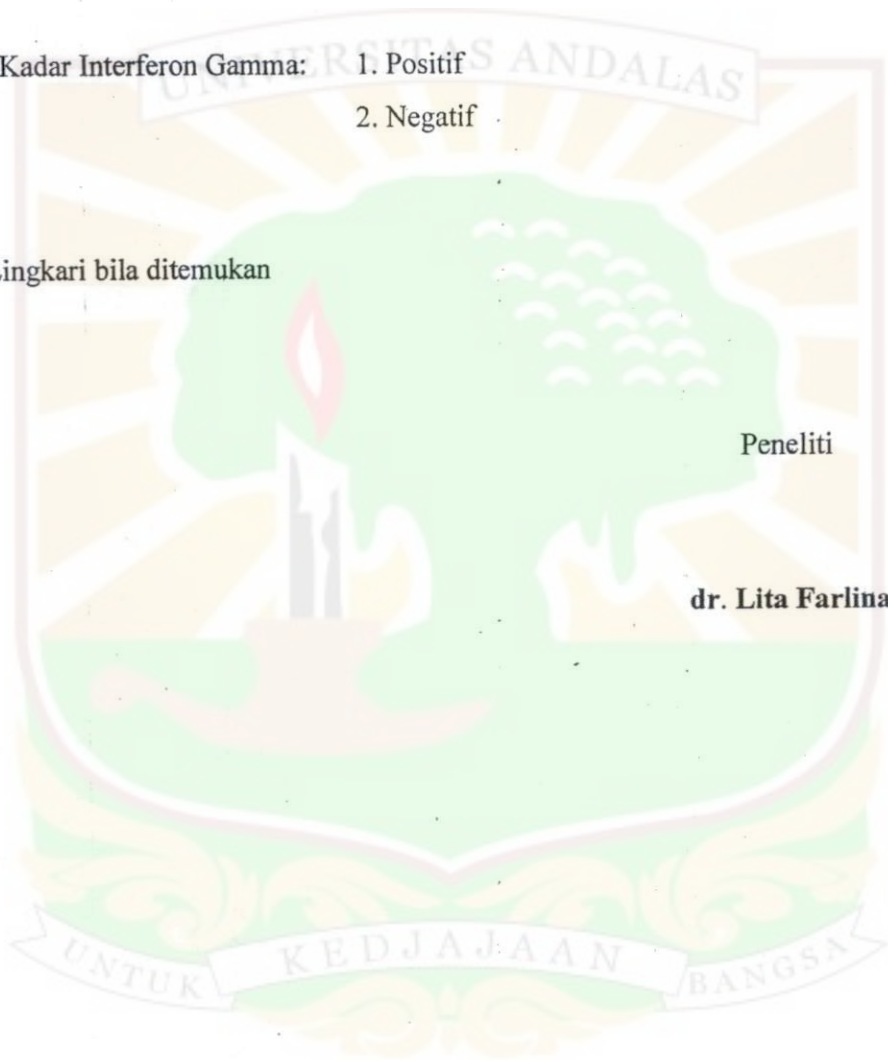
12. Skar BCG : ada/tidak ada\*

13. Hasil penelitian

Uji Tuberkulin : 1. Positif  
2. Negatif

Kadar Interferon Gamma: 1. Positif  
2. Negatif

NB:\* Lingkari bila ditemukan



Peneliti

dr. Lita Farlina

No.	Nama	Umur	Jenis Kelamin	Status Gizi	BCG scar	Riwayat Kontak	Gejala Klinis	Mantoux test	Uji IFN
	M. Fahri	3 tahun 10 bulan	laki-laki	baik	(+)	(-)	limfadenopati	(-)	+
	Windiyetal	14 tahun 2 bulan	perempuan	kurang	(-)	(+)	Batuk lama, napsu makan menurun	(-)	+
	Fikri R	1 tahun	laki-laki	kurang	(+)	(-)	limfadenopati, demam hilang timbul, BB tidak naik	(-)	-
	Rizky A	4 tahun 11 bulan	laki-laki	baik	(-)	(-)	limfadenopati, demam hilang timbul, batuk berulang	(-)	+
	Gina Raudhatul	8 tahun 3 bulan	perempuan	kurang	(-)	(-)	limfadenopati, demam berulang, batuk berulang	(-)	+
	Shinta Hendriani	9 tahun 10 bulan	perempuan	baik	(+)	(+)	limfadenopati, demam hilang timbul	(-)	-
	Ifda Mellyana	9 tahun 11 bulan	perempuan	kurang	(+)	(-)	limfadenopati, demam berulang, tidak mau makan	(-)	+
	Sundari	4 tahun 3 bulan	perempuan	kurang	(+)	(-)	limfadenopati, batuk lama, demam hilang timbul	(-)	-
	Anansya	5 tahun 10 bulan	perempuan	kurang	(-)	(+)	(-)	(+)	+
0.	Mechiko	1 tahun 8 bulan	laki-laki	kurang	(+)	(+)	limfadenopati, batuk	(+)	-
1.	Andika	8 tahun 8 bulan	laki-laki	kurang	(-)	(+)	limfadenopati, berat badan tidak naik, napsu makan menurun	(-)	-
2.	Brilly Arif	6 tahun 7 bulan	laki-laki	baik	(+)	(+)	Berat tidak naik, napsu makan menurun, demam lama	(+)	-
3.	Tama Rangga Putra	10 bulan	laki-laki	kurang	(+)	(+)	limfadenopati, berat badan tidak naik, batuk berulang, demam berulang	(-)	-
4.	Aurora	1 tahun 8 bulan	perempuan	kurang	(+)	(+)	(-)	(-)	+
5.	Furqon	8 tahun 11 bulan	laki-laki	kurang	(+)	(+)	(-)	(-)	-
6.	Ahmad	6 tahun 4 bulan	laki-laki	kurang	(+)	(-)	limfadenopati	(-)	+
7.	Angga	3 tahun 10 bulan	laki-laki	baik	(+)	(+)	limfadenopati	(-)	-

3.	Aisyah	9 tahun 2 bulan	perempuan	kurang	(-)	(-)	limfadenopati	(-)	+
9.	Putri	2 tahun 6 bulan	perempuan	kurang	(+)	(+)	limfadenopati, berat tidak naik, batuk berulang	(+)	+
0.	Rangga	12 tahun	laki-laki	kurang	(+)	(+)	limfadenopati, berat badan tidak naik	(-)	+
1.	M. Irsyad	6 tahun 7 bulan	laki-laki	kurang	(-)	(-)	limfadenopati	(-)	+
2.	Yusuf	11 tahun 7 bulan	laki-laki	kurang	(+)	(+)	(-)	(+)	-
3.	Hiqbal Kusuma	8 tahun 4 bulan	laki-laki	kurang	(-)	(+)	limfadenopati, berat tidak naik	(+)	-
4.	Ramzil	7 tahun	laki-laki	kurang	(+)	(-)	M. Tuberkulosis. KGB (-)	(-)	-
5.	Nando Kurniawan	9 tahun 10 bulan	laki-laki	kurang	(-)	(-)	limfadenopati, batuk berdarah	(-)	-
6.	Wahyu Febrio	5 tahun 9 bulan	laki-laki	kurang	(+)	(+)	limfadenopati	(-)	-
7.	Khaesya Yosela`	1 tahun 11 bulan	perempuan	kurang	(-)	(-)	limfadenopati, tidak mau makan	(-)	+
8.	M. Ilham	4 tahun 9 bulan	laki-laki	kurang	(+)	(+)	lifadenopati, batuk lama, demam hilang timbul	(+)	-
9.	Dio Oktaviano	2 tahun	laki-laki	baik	(+)	(+)	(-)	(+)	-
0.	Lingga Rizki	5 tahun 6 bulan	laki-laki	kurang	(+)	(-)	batuk lama	(-)	+
1.	Rasyka	6 tahun 8 bulan	perempuan	kurang	(-)	(+)	limfadenopati, demam lama, berat badan turun, tidak mau makan	(+)	-
2.	Febi Andriani	7 tahun 9 bulan	perempuan	kurang	(+)	(+)	(-)	(-)	-
3.	Sacio Clairin	4 tahun 10 bulan	perempuan	kurang	(+)	(-)	limfadenopati	(-)	+
4.	Mutiara	10 tahun 10 bulan	perempuan	kurang	(+)	(-)	Berat tidak naik, napsu makan menurun, demam lama	(-)	+

## Frequencies

### Statistics

		Umur	Jenis Kelamin	Status Gizi	BCG scar	Mantoux	Uji IFN
N	Valid	34	34	34	34	34	34
	Missing	0	0	0	0	0	0

## Frequency Table

### Umur

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	< 5 th	13	38.2	38.2	38.2
	5-10 th	17	50.0	50.0	88.2
	> 10 th	4	11.8	11.8	100.0
	Total	34	100.0	100.0	

### Jenis Kelamin

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Laki-laki	20	58.8	58.8	58.8
	Perempuan	14	41.2	41.2	100.0
	Total	34	100.0	100.0	

### Status Gizi

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Kurang	28	82.4	82.4	82.4
	Baik	6	17.6	17.6	100.0
	Total	34	100.0	100.0	

### BCG scar

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	(-)	11	32.4	32.4	32.4
	(+)	23	67.6	67.6	100.0
	Total	34	100.0	100.0	

### Mantoux

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	(-)	25	73.5	73.5	73.5
	(+)	9	26.5	26.5	100.0
	Total	34	100.0	100.0	

### Uji IFN

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid (-)	18	52.9	52.9	52.9
(+)	16	47.1	47.1	100.0
Total	34	100.0	100.0	

### Crosstabs

#### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
BCG scar * Mantoux	34	100.0%	0	.0%	34	100.0%

#### BCG scar \* Mantoux Crosstabulation

		Mantoux		Total
		(-)	(+)	
BCG scar (-)	Count	8	3	11
	% within BCG scar	72.7%	27.3%	100.0%
(+) BCG scar	Count	17	6	23
	% within BCG scar	73.9%	26.1%	100.0%
Total	Count	25	9	34
	% within BCG scar	73.5%	26.5%	100.0%

#### Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	.005 <sup>b</sup>	1	.942		
Continuity Correction <sup>a</sup>	.000	1	1.000		
Likelihood Ratio	.005	1	.942		
Fisher's Exact Test				1.000	.625
Linear-by-Linear Association	.005	1	.942		
McNemar Test				.003 <sup>c</sup>	
N of Valid Cases	34				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .91.

c. Binomial distribution used.

## Crosstabs

### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
BCG scar * Uji IFN	34	100.0%	0	.0%	34	100.0%

### BCG scar \* Uji IFN Crosstabulation

			Uji IFN		Total
			(-)	(+)	
BCG scar	(-)	Count	4	7	11
		% within BCG scar	36.4%	63.6%	100.0%
	(+)	Count	14	9	23
		% within BCG scar	60.9%	39.1%	100.0%
Total		Count	18	16	34
		% within BCG scar	52.9%	47.1%	100.0%

### Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1.794 <sup>b</sup>	1	.180		
Continuity Correction <sup>a</sup>	.945	1	.331		
Likelihood Ratio	1.807	1	.179		
Fisher's Exact Test				.274	.166
Linear-by-Linear Association	1.741	1	.187		
McNemar Test				.189 <sup>c</sup>	
N of Valid Cases	34				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5.18.

c. Binomial distribution used.

UNTUK KEDJAJAAN BANGSA



## Crosstabs

### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Uji IFN * Mantoux	34	100.0%	0	.0%	34	100.0%

### Uji IFN \* Mantoux Crosstabulation

			Mantoux		Total
			(-)	(+)	
Uji IFN (-)	Count	11	7	18	
	% within Uji IFN	61.1%	38.9%	100.0%	
(+)	Count	14	2	16	
	% within Uji IFN	87.5%	12.5%	100.0%	
Total	Count	25	9	34	
	% within Uji IFN	73.5%	26.5%	100.0%	

### Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	3.031 <sup>b</sup>	1	.082		
Continuity Correction <sup>a</sup>	1.826	1	.177		
Likelihood Ratio	3.185	1	.074		
Fisher's Exact Test				.125	.087
Linear-by-Linear Association	2.941	1	.086		
McNemar Test				.189 <sup>c</sup>	
N of Valid Cases	34				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 2 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4.24.

c. Binomial distribution used.

### Symmetric Measures

	Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
Measure of Agreement Kappa	.270	.145	1.741	.082
N of Valid Cases	34			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

## Crosstabs

### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Mantoux * Uji IFN * BCG scar	34	100.0%	0	.0%	34	100.0%

### Mantoux \* Uji IFN \* BCG scar Crosstabulation

BCG scar			Uji IFN		Total
			(-)	(+)	
(-)	Mantoux (-)	Count	2	6	8
		% within Mantoux	25.0%	75.0%	100.0%
	(+) )	Count	2	1	3
		% within Mantoux	66.7%	33.3%	100.0%
	Total	Count	4	7	11
		% within Mantoux	36.4%	63.6%	100.0%
(+) )	Mantoux (-)	Count	9	8	17
		% within Mantoux	52.9%	47.1%	100.0%
	(+) )	Count	5	1	6
		% within Mantoux	83.3%	16.7%	100.0%
	Total	Count	14	9	23
		% within Mantoux	60.9%	39.1%	100.0%

### Chi-Square Tests

BCG scar		Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	
(-)	Pearson Chi-Square	1.637 <sup>b</sup>	1	.201	.491	.279	
	Continuity Correction <sup>a</sup>	.331	1	.565			
	Likelihood Ratio	1.604	1	.205			
	Fisher's Exact Test						
	Linear-by-Linear Association	1.488	1	.223			
	McNemar Test						.289 <sup>c</sup>
	N of Valid Cases	11					
(+) )	Pearson Chi-Square	1.720 <sup>d</sup>	1	.190	.340	.208	
	Continuity Correction <sup>a</sup>	.680	1	.409			
	Likelihood Ratio	1.874	1	.171			
	Fisher's Exact Test						
	Linear-by-Linear Association	1.645	1	.200			
	McNemar Test						.581 <sup>c</sup>
	N of Valid Cases	23					

a. Computed only for a 2x2 table

b. 3 cells (75.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1.09.

c. Binomial distribution used.

d. 2 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2.35.

## Crosstabs

### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
BCG scar * Uji IFN	34	100.0%	0	.0%	34	100.0%

### BCG scar \* Uji IFN Crosstabulation

		Uji IFN		Total
		(-)	(+)	
BCG scar (-)	Count	4	7	11
	% within BCG scar	36.4%	63.6%	100.0%
BCG scar (+)	Count	14	9	23
	% within BCG scar	60.9%	39.1%	100.0%
Total	Count	18	16	34
	% within BCG scar	52.9%	47.1%	100.0%

### Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1.794 <sup>b</sup>	1	.180		
Continuity Correction <sup>a</sup>	.945	1	.331		
Likelihood Ratio	1.807	1	.179		
Fisher's Exact Test				.274	.166
Linear-by-Linear Association	1.741	1	.187		
McNemar Test				.189 <sup>c</sup>	
N of Valid Cases	34				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5.18.

c. Binomial distribution used.

### Symmetric Measures

BCG scar			Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
(-)	Measure of Agreement	Kappa	.294	.256	1.279	.201
	N of Valid Cases		11			
(+) )	Measure of Agreement	Kappa	.262	.172	1.311	.190
	N of Valid Cases		23			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

## Crosstabs

### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
BCG scar * Mantoux	34	100.0%	0	.0%	34	100.0%

### BCG scar \* Mantoux Crosstabulation

		Mantoux		Total
		(-)	(+)	
BCG scar (-)	Count	8	3	11
	% within BCG scar	72.7%	27.3%	100.0%
BCG scar (+)	Count	17	6	23
	% within BCG scar	73.9%	26.1%	100.0%
Total	Count	25	9	34
	% within BCG scar	73.5%	26.5%	100.0%

### Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	.005 <sup>b</sup>	1	.942		
Continuity Correction <sup>a</sup>	.000	1	1.000		
Likelihood Ratio	.005	1	.942		
Fisher's Exact Test				1.000	.625
Linear-by-Linear Association	.005	1	.942		
McNemar Test				.003 <sup>c</sup>	
N of Valid Cases	34				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2.91.

c. Binomial distribution used.

Protein	rerata -OD	OD1	OD2
1000	1.018	1.013	1.022
500	0.727	0.755	0.698
250	0.394	0.376	0.412
125	0.215	0.211	0.218
62.5	0.159	0.155	0.163
31.25	0.115	0.112	0.117
15.6	0.068	0.065	0.071
7.8	0.043	0.043	0.043
0	0.008	0.004	0.011

$$\text{Kadar protein (X)} \\ = (y - 0,078) / 0,0001$$

