UJI DIAGNOSIS *INTERFERON GAMMA RELEASE ASSAY* (IGRA) DENGAN METODE QUANTIFERON®TBC – GOLD PLUS (QFT – PLUS) PADA TUBERKULOSIS ANAK

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran

Oleh:

NAURA ANINDYA CANDINI
NIM: 165070101111052

PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR ISI

Judul i
Halaman Pengesahan ii
Pernyataan Keaslian Tulisan ii
Kata Pengantar iv
Abstrak vi
Abstract vii
Daftar Isi viii
Daftar Tabel xi
Daftar Gambar xii
Daftar Lampiran xiii
Daftar Singkatan xiv
BAB I PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 3
1.3 Tujuan Penelitian 3
1.3.1 Tujuan Umum 3
1.3.2 Tujuan Khusus 4
1.4 Manfaat Penelitian 4
1.4.1 Manfaat Akademik 4
1.4.2 Manfaat Praktis 4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA 5
2.1 Tuberkulosis 5
2.1.1 Definisi dan Sejarah Tuberkulosis 5
2.1.2 Epidemiologi Tuberkulosis Anak 6
2.1.3 Patofisiologi Tuberkulosis Anak 7
2.1.3.1 Tuberkulosis Primer 7
2.1.3.2 Tuberkulosis Pasca Primer (TB Sekunder) 11
2.1.3.3. Peran Sitokin dalam Perjalanan Infeksi TB 13
2.1.4 Diagnosis Tuberkulosis Anak 15

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

2.1.4.1 Penemuan Pasien TBC Anak 15
2.1.4.2 Gejala TBC Anak 16
2.1.4.3 Pemeriksaan untuk Diagnosis TBC Anak..... 18
2.1.4.4 Panduan Diagnosis TBC Anak..... 20
2.2 IGRA 27
2.2.1 Definisi IGRA 27
2.2.2 Sejarah dan Perkembangan IGRA 28
2.2.3 Prinsip dan Cara Kerja IGRA..... 32
BAB III KERANGKA KONSEP PENELITIAN 35
3.1 Kerangka Konsep Penelitian 35
3.1.1 Penjelasan Kerangka Konsep 36
BAB IV METODE PENELITIAN 37
4.1 Desain Penelitian 37
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian 37
4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian 38
4.4 Variabel Penelitian 38
4.5 Definisi Operasional 39
4.6 Alat dan Bahan..... 40
4.7 Metode Pengumpulan Data dan Prosedur Penelitian 40
4.7.1 Pengumpulan Data 40
4.7.2 Prosedur Penelitian..... 41
4.8 Pengolahan Data..... 44
BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA 46
5.1 Karakteristik Subyek Penelitian 46
5.2 Uji Diagnosis IGRA..... 47
5.2.1 Hasil Analisis Tabel 2x2..... 47
5.2.2 Hasil Analisis Kurva ROC 48
5.3 Hasil Analisis Tabel 2x2 TST..... 51
BAB VI PEMBAHASAN 53
6.1 Karakteristik Subyek Penelitian..... 53
6.2 Uji Diagnosis IGRA 56
6.2.1 Analisis dengan Tabel 2x2 56

6.2.2 Analisis dengan Kurva ROC 59
6.3 Implikasi terhadap Bidang Kedokteran 62
6.4 Keterbatasan Penelitian 62
BAB VII PENUTUP 63
7.1 Kesimpulan 63
7.2 Saran 63
DAFTAR PUSTAKA 65
LAMPIRAN 68

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

UJI DIAGNOSIS *INTERFERON GAMMA RELEASE ASSAY* (IGRA) DENGAN METODE QUANTIFERON®TBC – GOLD PLUS (QFT – PLUS) PADA TUBERKULOSIS ANAK

Oleh :

Naura Anindya Candini

NIM. 165070101111052

Telah diuji pada

Hari : Kamis

Tanggal : 14 November 2019

Dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

dr. Hidayat Sujuti, Sp.M, PhD

NIP. 196701231996011001

Pembimbing I/Penguji II,

dr. Agustin Iskandar, M.Kes, Sp.PK(K)

NIP. 197308171999032001

Pembimbing II/Penguji III,

dr. Ery Olivianto, Sp.A(K)

NIP. 197309152014101001

Ketua Program Studi Kedokteran

dr. Tri Wahju Astuti, M.Kes, Sp.P(K)

NIP. 196810232005012001

repository.ub.ac.id

ABSTRAK

Candini, Naura Anindya. 2019. *Uji Diagnosis Interferon Gamma Release Assay (IGRA) dengan Metode Quantiferon ®TBC – Gold Plus (QFT – Plus) pada Tuberkulosis Anak.* Tugas Akhir, Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing (1) dr. Agustin Iskandar, M.Kes, Sp.PK(K) (2) dr. Ery Olivianto, Sp.A(K)

Indonesia masuk dalam kategori 30 negara dengan beban Tuberkulosis tertinggi di dunia karena terdapat baik kasus Tuberkulosis, ko-infeksi TBC-HIV, dan Tuberkulosis resisten obat. Tuberkulosis pada anak kurang mendapatkan perhatian dibandingkan orang dewasa karena sulitnya diagnosis. Salah satu metode diagnosis Tuberkulosis yang mulai digunakan adalah IGRA akan tetapi penelitian untuk mengetahui nilai diagnostik pemeriksaan IGRA pada anak belum banyak dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai diagnostik IGRA dengan metode QFT – Plus pada Tuberkulosis anak. Penelitian deskriptif analitik dengan desain *cross-sectional* pada pasien terduga Tuberkulosis anak. Pada penelitian ini didapatkan 72 subyek yang memenuhi kriteria. Hasil pemeriksaan bakteri tahan asam dan Gen X-Pert pada mayoritas subjek adalah negatif. Hasil pemeriksaan *Tuberculin Skin Test* menunjukkan hasil positif hanya pada sebagian kecil subjek. Jumlah subjek yang memiliki hasil IGRA positif sejumlah 21 anak. Hasil perhitungan tabel 2x2 didapatkan sensitifitas 29,7%, spesifisitas 75%, dan akurasi 34,7%. Hasil perhitungan dengan kurva ROC didapatkan AUC untuk TB1 64,9% (IK 95%: 40,9 – 88,9%) dengan *cut-off* 0,095 untuk sensitivitas 70,3% dan spesifisitas 75%. AUC TB2 63,1% (IK 95%: 39,3 – 86,9%) dengan *cut-off* 0,115 untuk sensitivitas 62,5% dan spesifisitas 75%. AUC TB2 – TB1 46,9% (IK 95%: 27,8 – 66%) dengan *cut-off* 0,01 untuk sensitivitas 53,1% dan spesifisitas 50%. Pemeriksaan IGRA memiliki nilai diagnostik yang lemah pada Tuberkulosis anak sehingga sebaiknya tidak dijadikan pemeriksaan penunjang utama untuk mendiagnosis Tuberkulosis anak.

Kata Kunci: *Interferon Gamma Release Assay* (IGRA), tuberkulosis anak, uji diagnosis

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

ABSTRACT

Candini, Naura Anindya. 2019. *Diagnostic Performance of Interferon Gamma Release Assay (IGRA) using Quantiferon ®TBC – Gold Plus (QFT – Plus) Method in Childhood Tuberculosis.* Final Assignment, Medical Program. Faculty of Medicine. Universitas Brawijaya. Supervisors (1) dr. Agustin Iskandar, M.Kes, Sp.PK(K) (2) dr. Ery Olivianto, Sp.A(K)

Indonesia is among the 30 countries with the highest tuberculosis burden because there is an array of cases including tuberculosis, TBC-HIV co-infection, and multi drug resistant tuberculosis. Tuberculosis in children did not get enough attention compared to the one in adult due to its difficulty in diagnosing. One of the newest methods to diagnose Tuberculosis is IGRA but there haven't been many studies conducted to determine the diagnostic value of IGRA in children. The purpose of this study is to determine the diagnostic value of IGRA with QFT – Plus method in Tuberculosis in childhood. This is a descriptive analytic study with cross-sectional design for children that are clinically diagnosed with Tuberculosis. This study obtained 72 subjects that meet the criteria. Majority of subjects has a negative acid-fast bacilli and Gen X-Pert test results. Only a small portion of subjects showed positive results in Tuberculin Skin Test. There are 21 children with positive IGRA results. It can be inferred from the cross-sectional table that IGRA has the sensitivity of 29.7%, specificity of 75%, and accuracy of 34.7%. Measurements using ROC curves yielded the AUC of 64.9% (95% CI: 40.9 – 88.9%) for TB1 with cut-off point 0.095 for sensitivity of 70.3% and specificity of 75%. TB2 AUC is 63.1% (95% CI: 39.3 – 86.9%) with cut-off point 0,115 for sensitivity of 62.5% and specificity of 75%. TB2 – TB1 AUC 46.9% (95% CI: 27.8 – 66%) with cut-off point 0.01 for sensitivity of 53.1% and specificity of 50%. IGRA has a low diagnostic value in diagnosing tuberculosis in childhood so IGRA should not be the main supporting examination to diagnose childhood tuberculosis.

Keyword: Childhood tuberculosis, IGRA, Diagnostic study

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tuberkulosis (TBC) merupakan penyebab kematian terbanyak nomor 9 di dunia. Tahun 2017 terdapat 6,4 juta kasus TBC baru yang ditemukan serta 1,3 juta kematian yang disebabkan oleh TBC (WHO *Global Tuberculosis Report*, 2018). Indonesia masuk kategori 30 negara dengan beban TBC tertinggi di dunia karena terdapat baik kasus TBC, ko-infeksi TBC-HIV, dan Tuberkulosis Resisten Obat (TBCC – RO) (WHO *Global Tuberculosis Report*, 2018). Di Indonesia pada tahun 2017 terdapat 420.994 kasus baru TBC. Akan tetapi, nilai *Case Notification Rate* (CNR) atau jumlah kasus TBC yang ditemukan dan dicatat di Indonesia hanya sejumlah 161 kasus dari 100.000 populasi (Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI tentang Tuberkulosis, 2018).

Situasi di Kota Malang menunjukkan bahwa pada tahun 2014 ditemukan 537 kasus TBC dengan temuan Bakteri Tahan Asam (BTA) positif dari 7.913 terduga TBC. Jumlah kematian akibat TBC di Kota Malang sejumlah 5-6 kematian per 100.000 populasi dan besar CNR TBC di Kota Malang sejumlah 63,3 kasus dari 100.000 populasi (Profil Kesehatan Kota Malang, 2014).

. Menurut data WHO 2017, 6,9% dari kasus baru TBC yang ditemukan di dunia merupakan kasus TBC pada anak. Di Kota Malang, 7% dari kasus baru TBC atau sejumlah 106 kasus merupakan kasus TBC pada anak. Akan tetapi, TBC anak jarang mendapatkan perhatian dibanding TBC pada orang dewasa karena sulitnya diagnosis (Profil Kesehatan Kota Malang, 2014).

Hingga saat ini ada beberapa metode diagnosis TBC pada anak yang sudah dilakukan. Secara umum penegakan diagnosis TBC pada anak didasarkan pada gejala klinis khas TBC, bukti infeksi TBC, konfirmasi bakteriologik, dan

gambaran foto toraks sugestif TBC yang kemudian dihitung skornya berdasarkan sistem skoring (Kemenkes, 2016).

Pemeriksaan bakteriologik bertujuan menemukan bakteri penyebab TBC, dan hingga saat ini menjadi salah satu baku emas diagnosis TBC. Sampel untuk pemeriksaan bakteriologik yang paling umum diambil adalah sputum, dan nantinya akan dibuat hapusan atau dikultur pada medium khusus. Kelemahan pemeriksaan bakteriologik adalah pasien terkadang mengalami kesulitan mengeluarkan sputum. Selain itu, pada kultur bakteri membutuhkan waktu yang cukup lama sedangkan pasien harus segera diberikan terapi (CDC *Core Curriculum on Tuberculosis*, 2013).

Pemeriksaan radiologik yang biasa digunakan adalah dengan foto toraks. Namun, pemeriksaan radiologik hanya sebagai pemeriksaan penunjang bukan sebagai baku emas diagnosis karena foto toraks tidak memberikan gambaran yang khas dan dapat diinterpretasikan sebagai penyakit paru lainnya (Konsensus TBC Persatuan Dokter Paru Indonesia (PDPI), 2006)

Pemeriksaan penunjang lain yang biasa digunakan di Indonesia adalah dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR), dan uji tuberkulin. Untuk metode PCR dilakukan dengan mendeteksi adanya DNA bakteri *Mycobacterium tuberculosis.* Namun, kelemahan metode ini adalah harganya yang relatif mahal dan kebutuhan akan fasilitas dan teknisi khusus dalam pengerjaannya. Untuk *Tuberculin Skin Test* (TST), merupakan pemeriksaan yang bertujuan untuk mengetahui apabila seseorang telah mempunyai imunitas terhadap TBC. Meskipun mudah dilakukan, metode ini memiliki kelemahan yaitu seringnya terjadi *false positive* terutama jika individu telah mendapatkan vaksinasi *Bacille Calmet Guarine* (BCG) ataupun metode TST yang salah (Konsensus TBC PDPI, 2006).

Salah satu metode diagnosis TBC yang sudah mulai digunakan adalah dengan *Interferon Gamma Release Assay* (IGRA). IGRA mengukur produksi

Interferon Gamma (IFN-ɣ) ex-vivo oleh sel limfosit T ketika diinkubasi oleh adanya antigen spesifik bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Saat ini ada 2 jenis instrumen tes IGRA yang sudah tersedia yaitu QuantiFERON® - TBC (QFT) yang terdiri dari 2 jenis tes yaitu QFT-Plus dan QFT-*Gold In Tube* (GIT), serta T-SPOT®TBC (Machingadze, et al. 2011). Pemeriksaan metode IGRA sendiri memiliki kelebihan dibanding pemeriksaan lain karena tidak terjadi *false positive* pada pasien yang telah mendapatkan vaksinasi BCG. Selain itu, pemeriksaan IGRA memiliki nilai sensitivitas dan spesifitas tertinggi pada saat ini. QFT – Plus sendiri merupakan pemeriksaan IGRA generasi terbaru yang dipilih karena dapat mendeteksi produksi IFN-ɣ baik oleh sel T CD4+ maupun CD*+. Berdasarkan penelitian terdahulu pada orang dewasa di Jepang, QFT - Plus memiliki nilai sensitivitas dan spesifitas yang tertinggi dibandingkan jenis pemeriksaan IGRA yang lain dengan nilai sensitivitas 98,9% dan nilai spesifitas 98,1% (Takasaki, et al., 2017). Akan tetapi, penelitian untuk mengetahui nilai diagnostik pemeriksaan IGRA pada anak belum banyak dilaporkan. Oleh karena itu diperlukan penelitian untuk mengetahui nilai diagnostik pemeriksaan IGRA pada TBC anak.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimanakah nilai diagnostik pemeriksaan IGRA pada TBC anak dengan metode QFT-Plus?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui performa diagnostik pemeriksaan IGRA menggunakan metode QFT – Plus pada TBC Anak.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui sensitivitas pemeriksaan IGRA pada TBC anak.
2. Mengetahui spesifisitas pemeriksaan IGRA pada TBC anak.
3. Mengetahui nilai duga positif pemeriksaan IGRA pada TBC anak.
4. Mengetahui nilai duga negatif pemeriksaan IGRA pada TBC anak.
5. Mengetahui rasio kemungkinan positif pemeriksaan IGRA pada TBC anak.
6. Mengetahui rasio kemungkinan negatif pemeriksaan IGRA pada TBC anak
7. Mengetahui performa diagnostik pemeriksaan IGRA dibandingkan dengan pemeriksaan TST
8. Mengetahui *Area Under Curve* tabung TB1, TB2, dan TB2 – TB1 pemeriksaan IGRA pada TBC anak.
9. Menentukan *cut-off* tabung TB1, TB2, dan TB2 – TB1 pemeriksaan IGRA pada TBC anak.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Penelitian ini dapat menjadi dasar teori untuk menambah informasi dan pengetahuan serta menjadi dasar pengembangan penelitian selanjutnya dalam bidang kedokteran, khususnya dalam mendiagnosis TBC anak.

1.4.2 Manfaat Praktis

IGRA dapat digunakan untuk membantu menegakkan diagnosis TBC pada anak secara cepat, dan dapat diaplikasikan di pusat kesehatan di Indonesia.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tuberkulosis

2.1.1 Definisi dan Sejarah Tuberkulosis

Tuberkulosis paru (TBC) adalah suatu penyakit tertua yang menyerang manusia, dan kemungkinan telah berada sejak zaman *prehominid*, dan merupakan salah satu penyebab kematian terbesar di dunia. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dan biasanya mengenai paru, meskipun dapat pula menginfeksi organ tubuh lain (Raviglione dan O'Brien, 2013). TBC adalah suatu penyakit infeksi kronik yang sudah sangat lama dikenal pada manusia, dan dihubungkan dengan tempat tinggal di daerah urban, lingkungan yang padat, dibuktikan dengan adanya penemuan kerusakan tulang vertebra torak yang khas TBC dari kerangka yang digali di Heidelberg dari kuburan zaman neolitikum, begitu juga penemuan yang berasal dari mumi dan ukiran dinding pyramid di Mesir kuno pada tahun 2000-4000 SM. Hipokrates telah memperkenalkan terminologi *phthisis* yang diangkat dari Bahasa Yunani yang menggambarkan tampilan TBC paru ini (Amin dan Bahar, 2009).

Bukti lain dari Mesir, pada mumi-mumi yang berasal dari tahun 3500 SM, Jordania (300 SM), Scandinivia (200 SM), Nesperehan (1000 SM), Peru (700), *United Kingdom* (200-400 SM), masing-masing dengan fosil tulang manusia yang melukiskan adanya *Pott's disease* atau abses paru yang berasal dari tuberkulosis, atau terdapatnya lukisan orang-orang dengan bongkok tulang belakang karena sakit spondilitis TBC (Amin dan Bahar, 2009).

Literatur Arab: Al Razi (850-953 M) dan Ibnu Sina (980-1037 M) menyatakan adanya kavitas pada paru-paru dan hubungannya dengan lesi di kulit.

Pencegahannya dengan makan makanan yang bergizi, menghirup udara yang bersih dan kemungkinan (prognosis) dapat sembuh dari penyakit ini. Disebutkan juga bahwa TBC sering didapat pada usia muda (18-30 th) dengan tanda-tanda badan kurus dan dada yang kecil. Baru dalam tahun 1882 Robert Koch menemukan kuman penyebabnya semacam bakteri berbentuk batang dan dari sinilah diagnosis secara mikrobiologis dimulai dan penatalaksanaannya lebih terarah. Apalagi pada tahun 1896 Rontgen menemukan sinar X sebagai alat bantu menegakkan diagnosis yang lebih tepat. Penyakit ini kemudian dinamakan tuberkulosis, dan hampir seluruh tubuh manusia dapat terserang olehnya tetapi yang paling banyak adalah organ paru (Amin dan Bahar, 2009).

2.1.2 Epidemiologi Tuberkulosis Anak

Tuberkulosis masih merupakan penyakit penting sebagai penyebab morbiditas dan mortalitas, dan tingginya biaya kesehatan. Setiap tahun diperkirakan 9 juta kasus TBC baru dan 2 juta di antaranya meninggal. Dari 9 juta kasus baru TBC di seluruh dunia, 1 juta adalah anak usia< 15 tahun. Dari beberapa negara Afrika dilaporkan hasil isolasi *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) 7%-8% pada anak yang dirawat dengan pneumonia berat akut dengan dan tanpa infeksi *human immunodeficiency virus* (HIV), dan TBC merupakan penyebab kematian pada kelompok anak tersebut. Dilaporkan juga dari Afrika Selatan bahwa pada anak anak yang sakit TBC didapatkan prevalensi HIV 40 %-50% (Kartasasmita, 2009).

Indonesia masuk kategori 30 negara dengan beban TBC tertinggi di dunia karena terdapat baik kasus TBC, ko-infeksi TBC-HIV, dan *Multi Drug Resistant* (MDR) TB (WHO *Global Tuberculosis Report*, 2018). Di Indonesia pada tahun 2017 terdapat 420.994 kasus baru TBC (Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI tentang Tuberkulosis, 2018). Proporsi kasus TBC Anak di antara

semua kasus TBC di Indonesia pada tahun 2010 adalah 9,4%, kemudian menjadi 8,5% pada tahun 2011; 8,2% pada tahun 2012, 7,9% pada tahun 2013; 7,16% pada tahun 2014; dan 9% pada tahun 2015. Proporsi tersebut bervariasi antar provinsi, dari 1,2% sampai 17,3%. Variasi proporsi ini mungkin menunjukkan endemisitas yang berbeda antara provinsi, tetapi bisa juga karena perbedaan kualitas diagnosis TBC anak pada level provinsi (Kemenkes, 2016).

Faktor resiko penularan TBC pada anak sama halnya dengan TBC pada umumnya, tergantung dari tingkat penularan, lama pajanan, dan daya tahan tubuh. Pasien TBC dengan BTA positif memberikan kemungkinan resiko penularan lebih besar daripada pasien TBC dengan BTA negatif. Pasien TBC dengan BTA negatif masih memiliki kemungkinan menularkan penyakit TBC. Tingkat penularan pasien TBC BTA positif adalah 65%, pasien TBC BTA negatif dengan hasil kultur positif adalah 26% sedangkan pasien TBC dengan hasil kultur negatif dan foto toraks positif adalah 17% (Kemenkes, 2016).

2.1.3 Patofisiologi Tuberkulosis Anak

2.1.3.1 Tuberkulosis Primer

Transmisi TBC paru terjadi ketika individu yang sehat menghirup basil *M. tuberculosis* (MTB) yang dibatukkan atau dibersinkan keluar oleh penderita TBC berupa percik renik. Partikel infeksi ini dapat menetap dalam udara bebas selama 1-2 jam, tergantung pada ada tidaknya sinar ultraviolet, ventilasi yang buruk dan kelembaban. Dalam suasana lembab dan gelap kuman dapat tahan berhari-hari sampai berbulan-bulan. Bila partikel infeksi ini terisap oleh orang sehat, ia akan menempel pada saluran napas atau jaringan paru (Amin dan Bahar, 2009). Paru merupakan *port d'entrée* lebih dari 98% kasus infeksi TBC. Kuman penyebab TBC dalam bentuk droplet *nuclei* yang ukurannya sangat kecil (<5μm) akan terhirup dan dapat mencapai aleveoli. Pada sebagian kasus, kuman MTB dapat dihancurkan

seluruhnya oleh mekanisme imunologis nonspesifik yaitu oleh neutrofil sehingga tidak terjadi respon imunologis spesifik. Akan tetapi, pada sebagian kasus lainnya, tidak seluruhnya kuman dapat dihancurkan. Pada individu yang tidak dapat menghancurkan seluruh bakteri, makrofag di alveolus akan memfagosit bakteri (Kemenkes, 2016). Kebanyakan partikel ini akan mati atau dibersihkan oleh makrofag keluar dari percabangan trakeobronkial bersama gerakan silia dengan sekretnya (Amin dan Bahar, 2009).

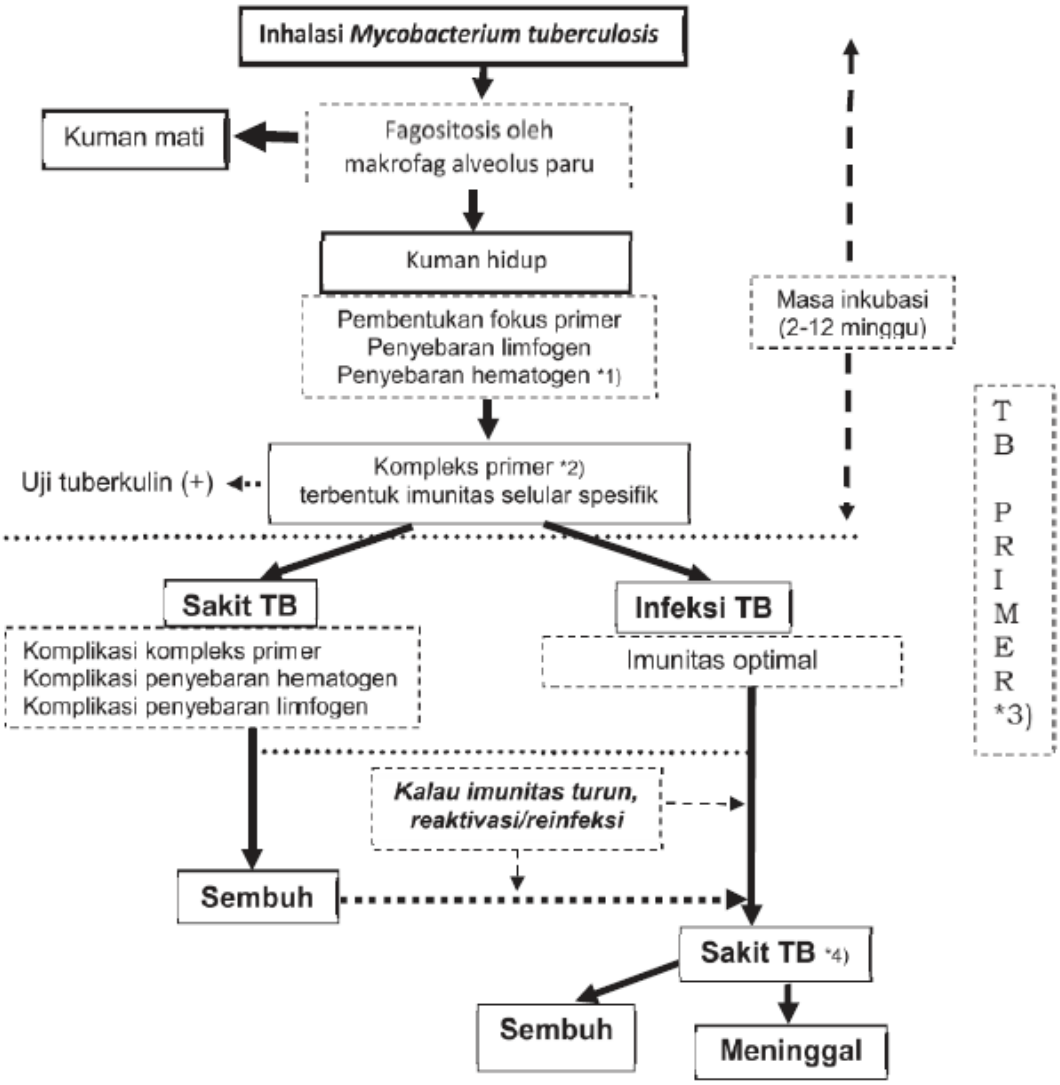
Bila kuman menetap di jaringan paru maka akan berkembang biak dalam sitoplasma makrofag hingga menyebabkan lisisnya makrofag dan bersarang di paru hingga menyebar ke organ lain (Kemenkes, 2016). Kuman yang bersarang di jaringan paru akan membentuk sarang tuberkulosis pneumonia kecil dan disebut sarang primer atau afek primer atau sarang (fokus) Ghon. Sarang primer ini dapat terjadi di setiap bagian jaringan paru. Bila menjalar sampai ke pleura, maka terjadilah efusi pleura. Basil *M. tuberculosis* dapat juga masuk melalui saluran pencernaan, jaringan limfe, orofaring, dan kulit. Dari sarang primer selanjutnya akan timbul peradangan saluran getah bening menuju hilus (limfangitis lokal), dan juga diikuti pembesaran kelenjar getah bening hilus (limfadenitis regional). Kompleks primer merupakan kompleks yang terdiri dari sarang primer, limfangitis lokal dan limfadenitis. Setelah terjadi limfadenopati regional kemudian basil dapat masuk ke dalam vena dan menjalar ke seluruh organ seperti paru, otak, ginjal, tulang. Bila basil masuk ke arteri pulmonalis maka terjadi penjalaran ke seluruh bagian paru menjadi TBC milier (Amin dan Bahar, 2009).

Dari sarang primer akan timbul peradangan saluran getah bening menuju hilus (limfangitis lokal), dan juga diikuti pembesaran kelenjar getah bening hilus (limfadenitis regional). Sarang primer limfangitis lokal + limfadenitis regional = kompleks primer (Ranke). Semua proses ini memakan waktu 3-8 minggu. Kompleks primer ini selanjutnya dapat menjadi:

- Sembuh sama sekali tanpa meninggalkan cacat. Ini yang banyak terjadi.
- Sembuh dengan meninggalkan sedikit bekas berupa garis-garis fibrotik, kalsifikasi di hilus, keadaan ini terdapat pada lesi pneumonia yang luasnya >5mm dan ±10% diantaranya dapat terjadi reaktivasi lagi karena kuman yang *dormant*.
- Berkomplikasi dan menyebar secara: a). per kontinuitatum, yakni menyebar kesekitarnya, b). secara bronkogen pada paru yang bersangkutan maupun paru di sebelahnya. Kuman dapat juga tertelan bersama sputum dan ludah sehingga menyebar ke usus, c). secara limfogen, ke organ tubuh lain-lainnya, d). secara hematogen, ke organ tubuh lainnya.

Semua kejadian di atas tergolong dalam perjalanan tuberkulosis primer (Amin dan Bahar, 2009). Waktu yang diperlukan sejak masuknya bakteri MTB hingga terbentuknya kompleks primer secara lengkap disebut masa inkubasi. Hal ini berbeda dengan pengertian masa inkubasi pada proses infeksi lain yang didefinisikan sebagai waktu yang diperlukan bagi bakteri yang masuk ke tubuh untuk menimbulkan gejala. Masa inkubasi TBC bervariasi selama 2-12 minggu. Selama masa inkubasi tersebut, bakteri akan berkembang biak hingga memicu respon imun selular (CMI) (Kemenkes, 2016).

Setelah CMI terbentuk, fokus primer di jaringan paru biasanya akan mengalami resolusi secara sempurna membentuk fibrosis atau kalsifikasi setelah terjadi nekrosis perkejuan dan enkapsulasi. Kelenjar limfe regional juga mengalami fibrosis dan enkapsulasi, tetapi penyembuhannya biasanya tidak sesempurna fokus primer di jaringan paru. Kuman TBC dapat tetap hidup dan menetap selama bertahun-tahun dalam kelenjar ini tanpa menimbulkan gejala TBC (Kemenkes, 2016). Penjelasan lebih lanjut dapat dilihat pada bagan gambar 2.1.



Gambar 2.1 Bagan Patogenesis TBC (Kemenkes, 2016)

1) Penyebaran hematogen terjadi secara sporadik. Kuman TBC akan membentuk fokus koloni di berbagai organ yang memiliki vaskularisasi yang baik. Fokus ini berpotensi mengalami reaktivasi menjadi TBC laten.
2) Kompleks primer terdiri atas fokus primer, limfangitis lokal, dan limfadenitis regional.
3) TBC Primer adalah kompleks primer beserta komplikasi yang ditimbulkannya.
4) TBC pasca primer terjadi akibat reaktivasi fokus lama (endogen) atau akibat reinfeksi atau infeksi sekunder bakteri TBC dari luar (eksogen).

2.1.3.2 Tuberkulosis Pasca Primer (Tuberkulosis Sekunder)

Kuman yang dorman pada tuberkulosis primer akan muncul bertahun-tahun kemudian sebagai infeksi endogen menjadi tuberkulosis dewasa (TBC pasca primer). Mayoritas reinfeksi mencapai 90%. Tuberkulosis sekunder terjadi karena imunitas menurun seperti malnutrisi, alkohol, penyakit maligna, diabetes, AIDS, gagal ginjal. Tuberkulosis pasca primer ini dimulai dengan sarang dini yang berlokasi di regio atas paru (bagian apikal-posterior lobus superior atau inferior). Invasinya adalah ke daerah parenkim paru-paru dan tidak ke nodus hiler paru (Amin dan Bahar, 2009).

Sarang dini ini mula-mula juga berbentuk sarang pneumonia kecil. Dalam 3-10 minggu sarang ini menjadi tuberkel yakni suatu granuloma yang terdiri dari sel-sel histiosit dan sel datia Langhans (sel besar dengan banyak inti) yang dikelilingi oleh sel-sel limfosit dan berbagai jaringan ikat (Amin dan Bahar, 2009).

TBC pasca primer juga dapat berasal dari infeksi eksogen dari usia muda menjadi TBC usia tua (*elderly tuberculosis*). Tergantung dari jumlah kuman, virulensinya, dan imunitas pasien, sarang dini ini dapat menjadi:

- Direabsorbsi kembali dan sembuh tanpa meninggalkan cacat.
- Sarang yang mula-mula meluas, tetapi segera menyebuh dengan serbukan jaringan fibrosis. Ada yang membungkus diri menjadi keras, menimbulkan perkapuran. Sarang dini yang meluas sebagai granuloma berkembang mengahuncurkan jaringan ikat sekitaranya dan bagian tengahnya mengalamai nekrosis, menjadi lembek membentuk jaringan keju. Bila jaringan keju dibatukkan keluar akan terjadilah kavitas. Kavitas ini mula-mula berdinding tipis, lama-lama dindingnya menebal karena infiltrasi jaringan fibroblast dalam jumlah besar, sehingga menjadi kavitas sklerotik (kronik). Terjadinya perkejuan dan kavitas adalah karena hidrolilis protein lipid dan asam nukleat onleh enzim yang diproduksi oleh makrofag, dan proses yang berlebihan sitokin dengan

TNF nya. Bentuk perkejuan lain yang jarang adalah *cryptic disseminate* TBC yang terjadi pada imunodefisiensi dan usia lanjut (Amin dan Bahar, 2009).

Di sini lesi sangat kecil, tetapi berisi bakteri sangat banyak. Kavitas dapat: a). meluas kembali dan menimbulkan sarang pneumonia baru. Bila isi kavitas ini masuk dalam peredaran darah arteri, maka akan terjadi TBC milier. Dapat juga masuk ke paru sebelahnya atau tertelan masuk lambung dan selanjutnya ke usus jadi TBC usus. Sarang ini selanjutnya mengikuti perjalanan seperti yang disebutkan terdahulu. Bisa juga terjadi TBC endobronkial dan TBC endotrakeal atau empiem bila rupture ke pleura; b). memadat dan membungkus diri sehingga menjadi tuberculoma. Tuberkuloma ini dapat mengapur dan menyembuh atau dapat aktif kembali menjadi cair dan menajdi kavitas lagi. Komplikasi kronik kavitas adalah kolonisasi oleh fungus seperti Aspergillus dan kemudian menjadi mycctoma; c). bersih dan menyembuh, disebut *open healed cavity.* Dapat juga menyembuh dengan membungkus diri menjadi kecil. Kadang-kadang berakhir sebagai kavitas yang terbungkus, menciut dan berbentuk seperti bintang disebut *stellate shaped* (Amin dan Bahar, 2009).

Secara keseluruhan akan terdapat 3 macam sarang yakni: 1). Sarang yang sudah sembuh. Sarang bentuk ini tidak perlu pengobatan lagi; 2). Sarang aktif eksudatif. Sarang bentuk ini perlu pengobatan yang lengkap dan sempurna; 3). Sarang yang berada antara aktif dan sembuh. Sarang bentuk ini dapat sembuh spontan, tetapi mengingat kemungkinan terjadinya eksaserbasi kembali, sebaiknya diberi pengobatan yang sempurna juga (Amin dan Bahar, 2009).

2.1.3.3 Peran Sitokin dalam Perjalanan Infeksi Tuberkulosis

Progresifitas TBC diasosiasikan dengan status imunitas. Respon imunitas pada tubuh inang terhadap patogen dimediasi oleh imunitas seluler dimana peran penting dipegang oleh sitokin dan sel-sel Th_1 tertentu (Calcavanti, 2012).

Sitokin adalah molekul yang memediasi komunikasi interseluler pada sistem imun dan diproduksi oleh beragam tipe sel. Sitokin memiliki efek regulatoris dan berperan pada sistem pertahanan *host* terutama pada proses inflamasi dan reparasi jaringan. Pada TBC, beberapa jenis sitokin yang berperan adalah interleukin (IL) – 12, IL – 23, IL – 27, IL – 18, IL – 1, IL – 17, dan IL – 15. Aspek penting yang berkaitan dengan produksi sitokin pada infeksi bakteri MTB adalah aktivasi makrofag terhadap respon sinyal IFN - ɣ dan *Tumor Necrosis Factor* (TNF) – α (Calcavanti, 2012).

Makrofag yang tidak teraktivasi merupakan habitat yang baik untuk pertumbuhan MTB karena lingkungan intraselulernya mampu menghamabt fusi fagosom dan lisosom sehingga mencegah destruksi bakteri melalui paparan pH rendah dan *reactive nitrogen intermediates* (RNI). Makrofag yang diaktivasi oleh IFN - ɣ mentranspose penghambatan ini dan membentuk fagolisosom yang mengekspresikan RNI sehingga mampu mengeliminasi bakteri MTB di lokasi infeksi (Calcavanti, 2012).

Beberapa sitokin, termasuk IL – 12, IL – 17, dan IL – 23, berkontribusi terhadap respon tubuh inang terhadap Mycobacteria dengan membantu perkembangan sel-sel Th_1. Diantara sitokin-sitokin Th_1, IFN - ɣ dan TNF – α merupakan agen-agen penting dalam kaskade sitokin antimycobacterial. Hal ini terjadi karena pembentukan dan pertahanan granuloma oleh TNF – α yang didukung secara sinergis dengan aktivasi makrofag oleh IFN - ɣ (Calcavanti, 2012).

Granuloma adlah struktur tipikal pada infeksi TB, dimana pada granuloma dapat ditemukan limfosit T CD4 dan CD8, limfosit B, makrofag, neutrophil,

fibroblas, dan *giant multinucleated cells*. Limfosit T CD4 yang memproduksi IFN - ɣ berperan dalam pembentukan granuloma dan juga sebagai ko-stimulator untuk aktivasi limfosit T CD8. Pentingnya keberadaan limfosit T CD4 dapat dilihat pada pasien dengan HIV dimana resiko terjangkit TBC meningkat seiring dengan berkurangnya jumlah sel limfosit T CD4 (Calcavanti, 2012).

Sel limfosit T CD4 memiliki aktivitas regulatoris terhadap fungsi makrofag dan limfosit T CD8 sitolitik. Fungsi efektor untuk eliminasi bakteri dimediasi oleh makrofag yang telah diaktivasi oleh sitokin yang berasal dari limfosit T terutama IFN - ɣ dan TNF – α (Calcavanti, 2012).

Interferon adalah substansi yang awalnya terindentifikasi pada kultur sel supernatant yang terinfeksi virus dan berperan pada replikasi virus. Interferon dibagi menjadi 2 tipe yaitu tipe I dan II. Interferon tipe I diinduksi dan berperan secara efektif pada respon terhadap virus. Interferon tipe I terdiri dari IFN – α yang diproduksi oleh leukosit dan IFN – β yang diproduksi oleh fibroblas. Interferon tipe II atau IFN - ɣ diproduksi oleh limfosit T dan *Natural Killer* (NK) *cells* setelah teraktivasi oleh stimulus imun dan inflamasi (Calcavanti, 2012).

Fungsi utama IFN - ɣ adalah aktivasi makrofag agar mampu mengekspresikan fungsi mikrobisidalnya. Selain itu, IFN - ɣ juga meningkatkan presentasi antigen melalui induksi ekspresi molekul dari *Major Histocompatibilty Complex* (MHC) kelas I dan II, serta meningkatkan diferensiasi limfosit T CD4. IFN - ɣ menginduksi transkripsi lebih dari 200 gen di makrofag termasuk gen-gen yang memproduksi molekul-molekul antimikrobial seperti oksigen radikal bebas dan nitrit oksida yang efektif dalam eliminasi bakteri MTB. Berbagai penelitian dan uji klinis telah membuktikan pentingnya produksi IFN - ɣ dalam control tuberkulosis. Individu dengan defisiensi gen reseptor IFN - ɣ tersebut sangat rentan terhadap infeksi Mycobacterium. Defisiensi total dari reseptor IFN - ɣ pada manusia diasosiasikan dengan peningkatan derajat keparahan perjalanan infeksi,

pembentukan granuloma yang buruk, lesi multibasiler, dan infeksi yang progresif (Calcavanti, 2012).

Setelah inhalasi dan terjadi infeksi oleh bakteri MTB di paru-paru, sel dendritik yang terinfeksi bakteri bermigrasi ke nodus limfe regional sekitar 14 hari setelah infeksi dan menginisiasi aktivasi sel T. Sel T CD4 dapat berkontribusi baik dalam kontrol bakteri MTB sekaligus berperan dalam morbiditas dan mortalitas penyakit TBC (Calcavanti, 2012).

2.1.4 Diagnosis Tuberkulosis Anak

2.1.4.1. Penemuan Pasien TBC Anak

Penemuan TBC pada anak dapat melalui upaya berikut:

1. Penemuan secara pasif

Upaya ini dilakukan pada anak yang mempunyai gejala dan/atau tanda klinis TBC yang datang ke fasilitas pelayanan kesehatan. Pada anak tersebut dilakukan pemeriksaan fisik dan pemeriksaan penunjang sesuai dengan fasilitas yang tersedia. Penemuan secara itnensif dilakukan melalui kolaborasi dengan program HIV, penyakit tidak menular (diabetes mellitus, keganasan, penyakit kronis lain) program gizi, dan KIA (manajemen terbaru balita sakit (MTBS)), dan sebagainya.

2. Penemuan secara aktif

Upaya ini dilakukan berbasis keluarga dan masyarakat melalui kegiatan investigasi kontak pada anak yang kontak erat dengan pasien TBC menular. Yang dimaksud dengan kontak erat adalah anak yang tinggal serumah atau sering bertemu dengan pasien TBC menular. Pasien TBC menular terutama pasien TBC paru dengan BTA positif dan umumnya terjadi pada pasien TBC dewasa. (Kemenkes, 2016)

2.1.4.2. Gejala TBC Anak

Gejala klinis TBC pada anak dapat berupa gejala sistemik/umum atau sesuai organ terkait. Gejala umum TBC pada anak yang sering dijumpai adalah batuk persisten, berat badan turun atau gagal tumbuh, demam lama serta lesu dan tidak aktif. Gejala-gejala tersebut sering dianggap tidak khas karena juga dijumpai pada penyakit lain. Namun demikian, sebenarnya gejala TBC bersifat khas, yaitu menetap (lebih dari 2 minggu) walaupun sudah diberikant erapi yang adekuat (misalnya antibiotika atau antimalaria untuk demam, antibiotika atau obat asma untuk batuk lama, dan pemberian nutrisi yang adekuat untuk masalah berat badan) (Kemenkes, 2016).

1. Gejala sistemik/umum

a. Berat badan turun atau tidak naik dalam 2 bulan sebelumnya atau terjadi gagal tumbuh (*failure to thrive*) meskipun telah diberikan upaya perbaikan gizi yang baik dalam waktu 1-2 bulan.

b. Demam lama (≥2 minggu) dan/atau berulang tanpa sebab yang jelas (bukan demam tifoid, infeksi saluran kemih, malaria, dan lain-lain). Demam umumnya tidak tingg. Keringat malam saja bukan merupakan gejala spesifik TBC pada anak apabila tidak disertai dengan gejala sistemik/umum lain.

c. Batuk lama ≥2 minggu, batuk bersifat *non-remitting* (tidak pernah reda atau intensitas semakin lama semakin parah), dan sebab lain batuk telah dapat disingkirkan. Batuk tidak membaik dengan pemberian antibiotika atau obat asma (sesuai indikasi).

2. Gejala spesifik terkait organ

Pada TBC ekstra paru dapat dijumpai gejala dan tanda klinis yang khas pada organ yang terkena.

a. Tuberkulosis kelenjar

1) Biasanya di daerah leher (*regio colli*)

2) Pembesaran kelenjar getah bening (KGB) tidak nyeri, konsistensi kenyal, multipel, dan kadang saling melekat (konfluens).

3) Ukuran besar (lebih dari 2x2 cm), biasanya pmbesaran KGB terlihat jelas bukan hanya teraba.

4) Tidak berespon terhadap pemberian antibiotika,

5) Bisa terbentuk rongga dan *discharge*.

b. Tuberkulosis sistem saraf pusat

1) Meningitis TBC: Gejala-gejala meningitis dengan seringkali disertai gejala akibat keterlibatan saraf-saraf otak yang terkena.

2) Tuberkuloma otak: Gejala-gejala adanya lesi desak ruang.

c. Tuberkulosis sistem skeletal

1) Tulang belakang (spondilitis): Penonjolan tulang belakang (*gibbus).*

2) Tulang panggul (koksitis): Pincang, gangguan berjalan, atau tanda peradangan di daerah panggul.

3) Tulang lutut (gonitis): Pincang dan/atau bengkak pada lutut tanpa sebab yang jelas.

4) Tulang kaki dan tangan (spina ventosa/daktilitis).

d. Tuberkulosis mata

1) Konjungtivitis fliktenularis

2) Tuberkel koroid: Terlihat melalui funduskopi

e. Tuberkulosis kulit (skrofuloderma) yang ditandai adanya ulkus disertai dengan jembatan kulit antar tepi ulkus (*skin bridge).*

f. Tuberkulosis organ-organ lainnya, misalnya peritonitis TBC, TBC ginjal; dicurigai bila ditemukan gejala gangguan pada organ-organ tersebut tanpa sebab yang jelas dan disertai kecurigaan adanya infeksi TBC (Kemenkes, 2016).

2.1.4.3. Pemeriksaan untuk diagnosis TBC Anak

1. Pemeriksaan bakteriologis

Pemeriksaan bakteriologis adalah pemeriksaan yang penting untuk menentukan diagnosis TBC, baik pada anak maupun dewasa. Pemeriksaan sputum pada anak terutama dilakukan pada anak berusia lebih dari 5 tahun, HIV positif, dan gambaran kelainan paru luas (Kemenkes, 2016).

Namun demikian, karena kesulitan pengambilan sputum pada anak dan sifat pausibasiler pada TBC anak, pemeriksaan bakteriologis selama ini tidak dilakukan secara rutin pada anak yang dicurigasi sakit. Untuk mendapatkan sputum pada anak sendiri dapat melalui dahak, bilasan lambung, dan induksi sputum. Untuk pemeriksaan bakteriologis TBC sendiri berupa:

a. Pemeriksaan mikroskopis BTA sputum atau specimen lain (cairan tubuh atau jaringan biopsi). Sebaiknya dilakukan minimal 2 kali yaiktu sewaktu dan pagi hari.

b. Tes cepat molekuler (TCM) TBC

Saat ini beberapa teknologi baru telah dikembangkan untuk dapat mengidentifikasi kuman *M. tuberculosis* dalam waktu yang cepat (kurang lebih 2 jam), antara lain pemeriksaa *Line Probe Assay* (misalnya *Hain GenoType* dan NAAT-*Nucleic Acid Amplification Test* misalanya Xpert MTB/RIF). Pemeriksaan TCM dapat digunakan untuk mendeteksi kuman *M. tuberculosis* secara molekuler sekaligus menentukan ada tidaknya resistensi terhadap Rifampicin. Pemeriksaan TCM mempunyai nilai diagnostic yang lebih baik daripada pemeriksaan mikroskopis sputum, tetapi masih di bawah uji biakan. Hasil negative TCM tidak menyingkirkan diagnosis TBC (Kemenkes, 2016).

c. Pemeriksaan biakan

Baku emas (*gold standard)* diagnosis TBC adalah dengan menemukan kuman penyebab TBC yaitu kuman *M. tuberculosis* pada pemeriksaan biakan(dari sputum, bilas lambung, cairan serebrospinal, cairan pleura ataupun biopsi

jaringan). Pemeriksaan biakan sputum dan uji kepekaan obat dilakukan jika fasilitas tersedia. Jenis media untuk pemeriksaan biakan yaitu:

- Media padat: hasil biakan dapat diketahui 4-8 minggu.
- Media cair: hasil biakan bisa diketahui lebih cepat (1-2 minggu), tetapi lebih mahal.

2. Pemeriksaan penunjang

Beberapa pemeriksaan lain yang dapat dilakukan untuk membatu menegakkan diagnosis TBC anak adalah:

a. Uji Tuberkulin

Uji tuberkulin bermanfaat untuk membantu menegakkan diagnosis TBC pada anak, khususnya jika riwayat kontak dengan pasien TBC tidak jelas. Uji tuberkulin tidak bisa membedakan antara infeksi dan sakit TBC. Hasil positif uji tuberkulin menunjukkan adanya infeksi dan tidak menunjukkan ada tidaknya sakit TBC. Sebaliknya, hasil negative uji tuberkulin belum tentu meningkirkan diagnosis TBC. (Kemenkes, 2016). Uji tuberkulin sendiri bertujuan untuk mengetahui apabila seseorang telah mempunyai imunitas terhadap TBC. Akan tetapi pada uji tuberkulin dapat terjadi *false positive* jika pasien telah menerima vaksinasi BCG (Konsensus TB PDPI, 2006).

b. Foto toraks

Foto toraks merupakan pemeriksaan penunjang untuk menegakkan diagnosis TBC anak, namun gambaran foto toraks pada TBC tidak khas kecuali gambaran TBC milier. Secara mum, gambaran radiologis yang menunjang TBC dapat berupa: pembesaran kelenjar hilus atau paratrakeal

dengan/infiltrat, konsolidasi segmental/lobar, efusi pleura, milier, atelectasis, kavitas, kalsifikasi dengan infiltrat, dan tuberkuloma

c. Pemeriksaan histopatologi (PA / Patologi Anatomi)

Pemeriksaan PA akan menunjukkan gambaran granuloma dengan nekrosis perkejuan di tengahnya dan dapat pula ditemukan gambaran sel datia langhans dan atau kuman TBC (Kemenkes, 2016).

2.1.4.4. Panduan Diagnosis TBC Anak

Di Indonesia, terdapat dua panduan diagnosis TBC anak yaitu berdasarkan *guideline* oleh Kementerian Kesehatan RI dan oleh WHO. Kementerian Kesehatan RI telah menyusun sistem skoring (Tabel 2.1) untuk membantu menegakkan diagnosis TBC pada anak dan mengurangi terjadinya *underdiagnosis* maupun *overdiagnosis* TBC. Sistem skoring ini diharapkan dapat diterapkan di fasilitas pelayanan kesehatan primer, tetapi tidak semua fasilitas pelayanan eksehatan primer di Indonesia mempunyai saran untuk melakukan uji tuberkulin dan foto toraks yang merupakan parameter pada sistem skoring. Oleh karena itu, pada fasilitas pelayanan kesehatan dengan fasilitas terbatas atau dengan akses yang sulit untuk pemeriksaan uji tuberkulin dan foto toraks, diagnosis TBC pada anak dapat ditegakkan tanpa menggunakan sistem skoring seperti pada alur diagnosis TBC anak (Gambar 2.2) (Kemenkes, 2016).

Langkah awal pada alur diagnosis TBC adalah pengambilan dan pemeriksaan sputum:

1. Jika hasil pemeriksaan mikrobiologi (BTA/TCM, sesuai dengan fasilitas yang tersedia) positif, anak didiagnosis TBC dan diberikan Obat Anti Tuberkulosis (OAT).
2. Jika hasil pemeriksaan mikrobiologi (BTA/TCM) negatif atau spesimen tidak dapat diambil, lakukan pemeriksaan uji tuberkulin dan foto toraks:

a. Jika tidak ada fasilitas atau tidak ada akses untuk uji tuberkulin dan foto toraks:

1) Jika anak ada riwayat kontak erat dengan pasien TBC menular, anak dapat didiagnosis TBC dan diberikan OAT.

2) Jika tidak ada riwayat kontak, lakukan observasi klinis selama 2-4 minggu. Bila pada *follow up* gejala menetap, rujuk anak untuk pemeriksaam uji tuberkulin dan foto toraks.

b. Jika tersedia fasilitas untuk uji tuberkulin dan foto toraks, hitung skor total menggunakan sistem skoring:

1) Jika skor total ≥6 → diagnosis TBC dan obati dengan OAT

2) Jika skor total <6, dengan uji tuberkulin positif atau ada kontak erat → diagnosis TBC dan obati dengan OAT.

3) Jika skor total <6, dan uji tuberkulin negatif atau tidak ada kontak erat→ observasi gejala selama 2-4 minggu, bila menetap, evaluasi ulang kemungkinan diagnosis TBC atau rujuk ke fasilitas pelayanan kesehatan yang lebih tinggi (Kemenkes, 2016).

Tabel 2.1 Sistem Skoring untuk Diagnosis TBC Anak oleh Kemenkes RI

Parameter	0	1	2	3
Kontak TBC	Tidak Jelas	-	Laporan keluarga, BTA (-) / BTA tidak jelas/tidak tahu	BTA (+)
Uji tuberkulin	Negatif	-	-	Positif (≥10 mm atau ≥5 mm pada immunokompromis)
Berat badan / keadaan gizi	-	BB/TB <90% atau BB/U <80%	Klinis gizi buruk atau BB/TB <70% atau BB/U <60%	-
Demam yang tidak diketahui	-	≥2 minggu	-	-
Batuk kronik	-	≥2 minggu	-	-
Pembesaran kelenjar limfe colli, aksila, inguinal	-	≥1 cm, lebih dari 1 KGB, tidak nyeri	-	-
Pembengkakan tulang/sendi panggul, lutut, belakang	-	Ada pembengkakan	-	-
Foto toraks	Normal / Kelainan tidak sugestif	Gambaran sugestif TBC	-	-
Skor total:				

(Sumber: Kemenkes, 2016)

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Gambar 2.2 Alur Diagnosis TBC Anak (Kemenkes, 2016)

Diagnosis TBC pada anak dimulai dengan pencarian gejala khas TBC yang dilanjutkan oleh pemeriksaan penunjang yang tersedia di fasilitas kesehatan tempat pasien datang. Setelah itu, hasil penemuan yang ada dinilai berdasarkan sistem skoring yang ada untuk menentukan apakah anak terdiagnosis TBC dan harus menerima terapi OAT atau perlu diobservasi lebih lanjut.

Disamping sistem skoring oleh Kemenkes, WHO telah menyusun panduan diagnosis TBC anak. Diagnosis TBC anak didasarkan oleh penemuan bukti-bukti yang berasal dari anamnesis keterpaparan terhadap TBC, pemeriksaan klinis, dan

pemeriksaan lain yang relevan seperti TST, konfirmasi bakteriologis jika memungkinkan, foto toraks jika tersedia fasilitas X-Ray, Xpert MTB/RIF, IGRA, dan pemeriksaan HIV (WHO, 2014).

Pada anamnesis, hal yang paling penting untuk digali adalah kontak dengan penderita TBC, gejala yang merujuk pada TBC, dan faktor resiko yang relevan. Pada saat mencari riwayat kontak, keterpaparan anak terhadap orang dewasa yang hasil hapusan sputumnya BTA positif memiliki kemungkinan lebih besar terinfeksi TBC. Kontak dengan orang rumah merupakan sumber infeksi TBC tersering pada anak-anak dibawah usia 5 tahun dengan TBC. Pada anamnesis akan didapatkan anak-anak dengan resiko TBC yang besar diantaranya:

a. Semua anak usia 0-4 tahun dengan atau tanpa gejala TBC dan semua anak-anak berusia diatas 5 tahun yang memiliki gejala TBC, yang memiliki kontak erat dengan penderita TBC
b. Anak semua usia dengan HIV yang memiliki kontak erat dengan penderita TBC

Sebagai tindak lanjut, pada anak-anak yang telah terdiagnosis TBC, harus segera dicari sumber kontak nya jika belum teridentifikasi. Ketika anak-anak telah terinfeksi TBC, anak-anak lain yang telah terpapar harus segera di *screening* terutama jika anak yang terinfeksi hasil hapusan sputumnya BTA positif dan terdapat gambaran foto toraks yang sugestif TBC (WHO, 2014).

Pada mayoritas kasus, anak-anak yang terinfeksi TBC menunjukkan gejala yang kronis tanpa remisi selama lebih dari 2 minggu tanpa perbaikan, atau terdapat perbaikan setelah menerima pengobatan untuk diagnosis penyakit lain seperti pemberian antibiotik untuk pneumonia, antimalaria untuk demam, dan support nutrisi pada gagal tumbuh. Gejala yang paling sering muncul adalah batuk, demam, anoreksia, penurunan berat badan atau kegagalan tumbuh, *fatigue*, serta berkurangnya aktivitas dan keceriaan anak (WHO, 2014).

Untuk faktor resiko yang dapat digali adalah adanya kontak TB dengan orang yang tinggal satu rumah dengan anak, usia anak dibawah 5 tahun, anak dengan infeksi HIV, dan anak dengan malnutrisi berat (WHO, 2014).

Untuk pemeriksaan fisik, tidak ada fitur spesifik yang dapat mengonfirmasi diagnosis TBC paru. Beberapa gejala klinis, meskipun jarang, sangat sugestif terhadap TBC ekstraparu. Meskipun tidak spesifik, gejala-gejala ini tetap mengindikasikan adanya TBC dan memerlukan evaluasi lebih lanjut. Gejala tersebut adalah:

a. Gejala sugestif TBC ekstra paru: adanya gibbus terutama pada onset mendadak pada TBC vertebra, dan adanya pembesaran limfadenopati leher dengan atau tanpa pembentukan fistula.
b. Gejala yang memerlukan investigasi lebih lanjut untuk mengeksklusi kemungkinan TBC ekstraparu: meningitis yang tidak responsif terhadap terapi antibiotik dengan onset subakut dan atau dengan peningkatan tekanan intrakranial, efusi pleura, efusi perikardial, distensi abdomen denga asites, pembesaran nodus limfe tanpa pembentukan fistula yang tidak disertai nyeri, dan pembengkakan persendian tanpa disertai nyeri.

Pada anak-anak yang menerima terapi nutria atau suplemen nutrisional tetapi tidak menunjukkan kenaikan bobot tubuh yang signifikan atau terus kehilangan bobot tubuh memiliki kemungkinan menderita penyakit kronis seperti TBC dan harus dievaluasi lebih lanjut (WHO, 2014).

Untuk pemeriksaan TST hanya mengindikasikan seseorang telah terinfeksi bakteri MTB tetapi tidak mengindikasikan adanya penyakit TB. TST dapat bermanfaat pada anak suspek TBC terutama yang tidak memiliki riwayat kontak dan dapat dijadikan pemeriksaan tambahan.Hasil TST dikatakan positif terutama pada anak-anak dengan immunosupresis (HIV positif, marasmus, kwashiorkor) dengan diameter indurasi >5mm, dan pada anak-anak lain dengan

diameter indurasi >10 mm baik yang telah divaksinasi BCG maupun tidak (WHO, 2014).

Untuk konfirmasi bakteriologi, harus dilakukan jika memungkinkan karena masih merupakan baku emas diagnosis TBC. Pemeriksaan dapat dilakukan menyesuaikan dengan spesimen dan fasilitas yang tersedia. Pada anak-anak lebih sering ditemukan TBC pausibasiler dimana jumlah bakteri sedikit sehingga hasil positif akan lebih mudah ditunjukkan oleh kultur disbanding hasil pengecatan hapusan. Konfirmasi bakteriologis sendiri sangat penting dilakukan terutama pada anak-anak suspek TBC-RO, terinfeksi HIV, dengan komplikasi penyakit TBC, diagnosis meragukan, dan telah meenrima pengobatan (WHO, 2014).

Untuk foto toraks, gambaran yang biasa ditemukan adalah opasifikasi yang persisten pada paru dan pembesaran hilus atau kelenjar limfe subcarinal. Pada anak-anak dengan HIV negatif, polar opasifikasi milier sangat sugestif TBC. Pada pasien anak-anak usia remaja, gambaran radiologisnya menyerupai orang dewasa seperti adanya efusi pleura dan infiltrate pada apex disertai pembentukan kavitas (WHO, 2014).

Untuk Xpert MTB/RIF merupakan pemeriksaan berbasis DNA yang mendeteksi penyakti TBC serta resistensi terhadap Rifampisin yang merupakan salah satu regimen pengobatan TBC. Selain Xpert MTB/RIF, pemeriksaan IGRA juga direkomendasikan oleh WHO. IGRA sendiri belum dijadikan alat diagnosis utama TBC akan tetapi dapat direkomendasikan sebagai alat pemeriksaan penunjang. Terdapat pemeriksaan penunjang TBC lain untuk identifikasi penyakit TBC ekstraparu namun tidak direkomendasikan untuk dilakukan secara rutin. Diantaranya adalah biopsi jarum halus limfonodi untuk diagnosis TBC kelenjar, lumbal pungsi untuk diagnosis TBC milier dan meningitis TBC, analisis biokimia cairan pleura untuk diagnosis efusi pleura, ultrasonografi abdomen dan analisis cairan asites untuk diagnosis TBC peritoneal, biopsi cairan synovial untuk

diagnosis TBC tulang dan sendi, serta ultrasonografi dan *pericardial tap* untuk diagnosis TBC perikardial. Pemeriksaan penujang tersebut hanya dilakukan jika sudah terdapat indikasi bahwa anak menderita TBC ekstraparu (WHO, 2014).

Selain pemeriksaan penunjang TBC, anak-anak juga harus diperiksa HIV karena TBC merupakan salah satu penyakit yang sering berkoinfeksi dengan HIV. Pemeriksaan HIV sendiri direkomendasikan untuk dilakukan secara rutin baik pada anak-anak maupun dewasa pada daerah endemis HIV atau populasi resiko infeksi HIV besar (WHO, 2014).

2.2. IGRA

2.2.1. Definisi IGRA

IGRA adalah tes yang dikembangkan untuk membantu diagnosis baik TBC aktif maupun laten. Pada tes IGRA menggunakan sampel darah lengkap dari pasien dan hasilnya sudah bisa didapatkan dalam waktu 24 jam (Kawamura, 2017).

Saat ini ada 2 jenis instrumen tes IGRA yang sudah tersedia yaitu QuantiFERON® - TB (QFT) yang terdiri dari 2 jenis tes yaitu QFT-Plus dan QFT-*Gold In Tube* (GIT), serta T-SPOT®TB. Tes QFT menginkubasi darah lengkap dan mengukur produksi IFN-ɣ menggunakan ELISA. Untuk T-SPOT mengukur jumlah IFN-ɣ yang memproduksi sel-sel mononuclear perifer. Kedua jenis tes ini mengukur produksi IFN - ɣ ex-vivo yang diproduksi oleh limfosit T ketika terinkubasi oleh adanya antigen-antigen spesifik dari bakteri *M. tuberculosis*, yaitu *Early Secreted Antigenic Target* – 6 (ESAT-6), *Culture Filtrate Protein* – 10 (CFP 10), serta TB7.7. Ketiga jenis antigen ini tidak didapatkan pada *strain* bakteri *Mycobacterium bovis* yang digunakan pada vaksinasi BCG, sehingga penggunaan tes ini tidak akan menimbulkan hasil *false positive* pada pasien yang telah menerima vaksinasi BCG (Mandalakas, et al., 2011).

2.2.2. Sejarah dan Perkembangan IGRA

Sebelum IGRA ditemukan, deteksi infeksi TBC dengan prinsip imunologi menggunakan metode TST. TST menggunakan *Purified Protein Derivatives* (PPD) untuk memicu reaksi hipersensitivitas lokal pada individu yang terinfeksi MTB. PPD diinjeksikan secara intradermal pada pasien lalu 48 – 72 jam kemudian diamati timbulnya indurasi pada area kulit yang diinjeksikan PPD. PPD adalah preparat protein yang berasal dari presipitat kultur bakteri MTB yang telah dimatikan oleh pemanasan sehingga pada pelaksanaan TST, pasien dipaparkan pada campuran heterogen dari berbagai kompleks antigen. Hal ini mencakup antigen yang terdapat pada vaksinasi BCG dan bakteri Mycobacterium non – tuberkulosis sehingga dapat menjadi pengganggu atau *confounder* ketika dilakukan TST pada pasien yang telah menerima vaksinasi BCG atau pasien yang terinfeksi Mycobacterium non – tuberkulosis. Karena ini, TST dianggap kurang spesifik dalam mendiagnosis TBC (Whitworth, et al., 2013).

Pada akhir 1990, sebuah tes darah *in vitro* baru dikembangkan. Pada tes ini, PPD digunakan untuk menstimulasi sel T pada darah lengkap dan kemudian dideteksi produksi IFN - ɣ. Penemuan ini merupakan adaptasi dari pemeriksaan Bovigam yang digunakan untuk diagnosis TBC akibat *Mycobacterium bovis* . Pemeriksaan ini kemudian dinamakan QuantiFERON – TB (QFT) dan merupakan IGRA pertama untuk diagnosis TBC. QFT mendapatkan izin produksi pada tahun 2001 (Whitworth, et al., 2013).

Pada era tahun 1990, *genome-wide microarrays* membuktikan ada perbedaan genom pada spesies Mycobacterium seperti antara bakteri MTB dengan *M. bovis,* dan *environmental* Mycobacterium. Pada DNA diregangkan dan ditemukan area tertentu yang dinamai *Regions of Difference. Region of Difference* 1 (RD1) ditemukan pada semua *strain* MTB namun tidak ditemukan pada vaksin

BCG dan mayoritas *environmental* Mycobacterium. Antigen pada RD1 mampu menginduksi respon sel T yang kuat dari kultur sel pasien TBC dan memberikan potensi untuk menggunakan antigen ini pada IGRA generasi selanjutnya (Whitworth, et al., 2013).

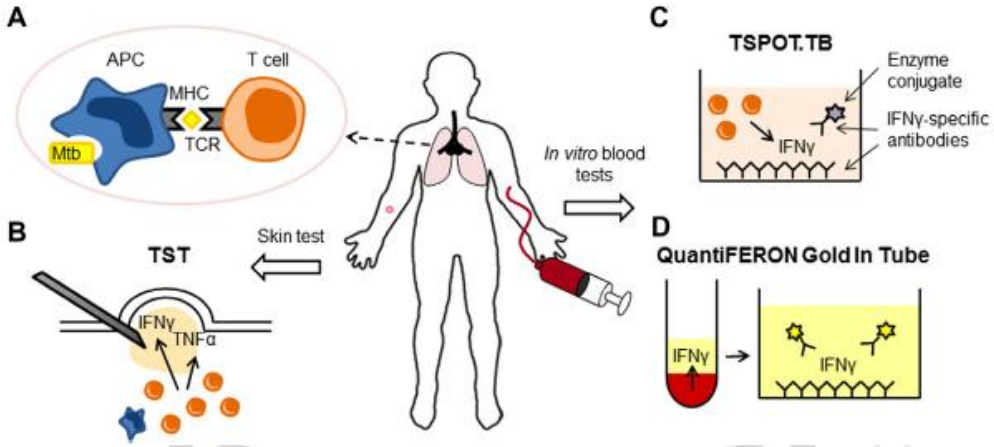
Pada 1995, filtrat kultur sel tikus yang diinfeksi MTB ditemukan adanya antigen yang memiliki antigenesitas tinggi yaitu *Early Secreted Antigenic Target* 6kDa (ESAT – 6). Gen ESAT – 6 ditemukan hanya pada gen RD1 dan tidak ditemukan pada vaksin BCG maupun *environmental* Mycobacterium yang mengindikasikan spesifitas gen ini lebih baik dari PPD untuk bakteri MTB. Sensitivitas tinggi ini ditunjukkan oleh antigenesitas yang poten dan tingginya kemampuan antigen ESAT – 6 untuk dikenali oleh limfosit T yang memproduksi IFN - ɣ. Penghitungan respon sel T terhadap ESAT – 6 dapat membedakan infeksi MTB dengan individu sehat yang divaksinasi BCG maupun individu yang terinfeksi Mycobacterium dari spesies lain (Whitworth, eat al., 2013).

Pada 1998, ditemukan antigen kedua yaitu *Culture Filtrate Protein* 10kDa (CFP – 10) karena antigenesitasnya yang tinggi pada percobaan dengan tikus yang terinfeksi TBC. Seperti halnya ESAT – 6, CFP – 10 juga hanya dikode pada RD1 dan tidak ditemukan pada vaksin BCG maupun *environmental* Mycobacterium. Dengan antigenesitasnya yang tinggi, CFP – 10 mudah dikenali oleh limfosit T pasien yang terinfeksi TBC. Kombinasi ESAT – 6 dan CFP – 10 meningkatkan sensitivitas pemeriksaan yang mendeteksi respon sel T pada TBC tanpa mengurangi spesifitasnya (Whitworth, et al., 2013).

Sebelumnya, pengukuran respon antigen sel T bergantung pada kultur sel selama 1 – 2 minggu untuk memproduksi respon imun *host* yang spesifik dan dapat diukur. Selain itu, kultur sel ini membutuhkan fasilitas kultur jaringan yang khusus dan adanya tenaga ahli. Penemuan protein yang mensekresikan RD1 menghasilkan antigen yang mampu mendeteksi respon IFN - ɣ sel T yang spesifik

terhadap TBC dalam waktu yang jauh lebih singkat yaitu dalam 16 – 20 jam. Berbagai prosedur pun dikembangkan untuk memungkinkan deteksi respon IFN - ɣ dalam waktu 24 jam setelah stimulasi sel imun *host* dengan antigen seperti menggunakan *flow cytometry*, *Enzyme – linked Immunospot* (ELISpot), dan ELISA. Teknologi ELISpot dan ELISA kemudian banyak dikembangkan lebih lanjut untuk diagnosis TBC (Whitworth, et al., 2013).

Pemeriksaan ELISpot dikembangkan menjadi alat diagnostic komersial pada tahun 2004 sebagai T-SPOT. Disaat yang bersamaan, antigen ESAT – 6 dan CFP -10 digunakan pada QFT untuk menggantikan PPD dan kemudian dipasarkan sebagai QFT – Gold pada 2005 (Gambar 2.3). Setelah itu ditemukan antigen baru TB7.7 serta dikembangkan metode baru pengambilan sampel yang lebih mudah menggunakan *vacutainer*. Dua terobosan baru ini dipasarkan sebagai QFT Gold-in-Tube (QFT – GIT) pada 2007 (Whitworth, et al., 2013).

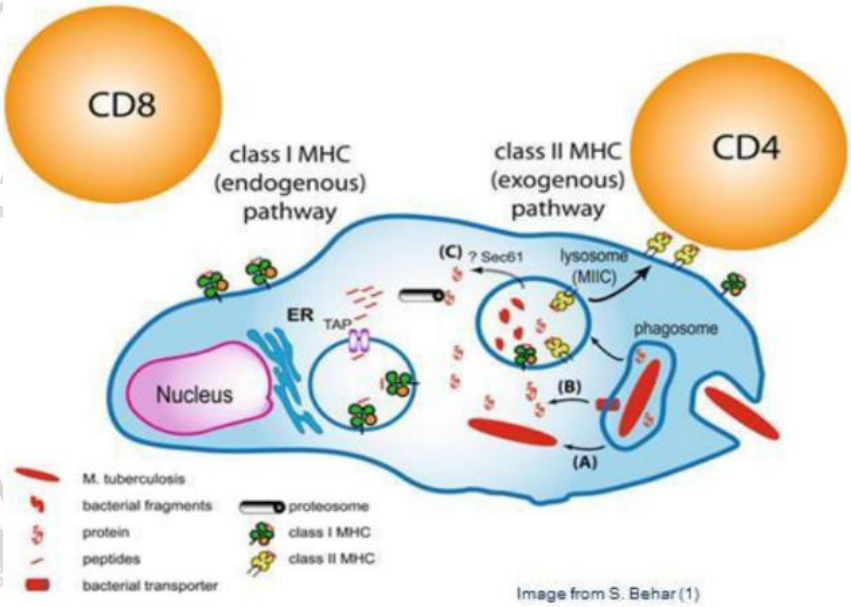


Gambar 2.3 Perbedaan Mekanisme Kerja TST dengan T-SPOT dan QFT – GIT (Whitworth, et al., 2013)

A. Bakteri *M. tuberculosis* akan berikatan dengan makrofag di paru. Kemudian dengan MHC, makrofag akan berikatan dengan reseptor TCR di sel limfosit T.
B. Pada pemeriksaan TST, pasien disuntikkan PPD yang mengandung antigen Mycobacterium untuk menginduksi reaksi hipersensitivitas yang melibatkan sitokin pro – inflamasi seperti IFN - ɣ.
C. Pada pemeriksaan TSPOT, respon IFN - ɣ spesifik infeksi TBC diinduksi oleh adanya konjugat enzim yang mengandung antigen spesifik RD1.

D. Pada pemeriksaan QFT – GIT, sampel darah diambil menggunakan tabung khusus yang berisi antigen spesifik MTB yaitu ESAT – 6 dan CFP – 10 untuk menginduksi respon IFN - ɣ yang spesifik infeksi TBC.

Selanjutnya, dikembangkan IGRA generasi keempat yaitu QFT Gold – Plus (QFT – Plus). QFT – Plus tetap menggunakan prinsip antigen ESAT – 6, CFP – 10, dan TB7.7 seperti ketiga pendahulunya. Namun, QFT – Plus dikembangkan untuk mampu mengenali beberapa jenis peptida yang terdapat pada MHC kelas I pasien yang terinfeksi TBC. Hal ini menunjukkan bahwa QFT – Plus mampu mendeteksi respon limfosit baik CD4 maupun CD8 (Gambar 2.4). QFT – Plus mulai dikenalkan pada tahun 2013 (Kawamura, 2017).



Gambar 2.4 Mekanisme kerja QFT – Plus (Kawamura, 2017)

Jika pada QFT – GIT pemeriksaan hanya mampu mendeteksi IFN - ɣ yang diproduksi oleh limfosit Th1 CD4+, pada QFT – Plus juga dapat mendeteksi produksi IFN - ɣ oleh limfosit Th1 CD8+ yang berikatan dengan MHC kelas II pada makrofag yang telah memfagosit bakteri MTB.

2.2.3. Prinsip dan Cara Kerja IGRA

Prinsip kerja IGRA mengacu pada mekanisme imunologis yang terjadi setelah infeksi bakteri MTB dan memungkinkan deteksi dari respon imun adaptif *host* terhadap pathogen *ex vivo*. Pada infeksi TBC, paparan pertama terjadi setelah inhalasi bakteri MTB. Bakteri tersebut kemudian akan difagositosis oleh *Antigen Presenting Cell* (APC) paru termasuk makrofag dan sel dendritik yang selanjutnya akan bermigrasi ke hilus nodus limfe. Disini, antigen spesifik MTB akan dipresentasikan kepada sel T melalui MHC yang terdapat dipermukaan APC. Presentasi antigen melalui MHC kelas II ke sel T CD4+ akan mengaktifkan reseptor sel T atau *T Cell Receptor* (TCR) yang spesifik terhadap kompleks antigen MHC – TBC. Hal ini akan memicu diferensiasi sel T CD4+ spesifik TBC menjadi sel T efektor dan sel T memori. Sel T efektor yang terdiferensiasi akan bermigrasi ke jaringan yang terinfeksi dan memicu respon inflamasi oleh sel Th_1. Presentasi antigen bakteri MTB oleh APC kepada sel T CD8+ melalui MHC kelas I akan memicu diferensiasi sel yang mengekspresikan TCR spesifik melalu kompleks antigen MHC – TBC ke sel T sitotoksik (Whitworth, et al., 2013).

IGRA didasari oleh prinsip bahwa setelah terpapar antigen MTB secara *in vitro,* sel T CD4+ dan CD8+ yang spesifik terhadap antigen MTB yang ada di peredaran darah akan teraktivasi dan memproduksi sitokin pro-inflamasi IFN - ɣ. Pemeriksaan IGRA mencakup stimulasi sel T di peredaran darah dengan antigen MTB kemudian mengukur kadar produksi IFN - ɣ. Hanya sel T yang terpapar antigen MTB yang akan menghasilkan respon sehingga terdeteksinya IFN - ɣ pada darah mengindikasikan adanya infeksi TBC (Whitworth, et al., 2013).

Untuk pemeriksaan IGRA dengan metode QFT – Plus sendiri menggunakan tabung pengkoleksian darah khusus yang mengandung antigen-antigen yang menyerupai protein dari bakteri MTB. Tabung yang terisi sampel darah penderita akan diinkubasi selama 16 sampai 24 jam, lalu plasma nya akan

diambil dan diperiksa kadar IFN - ɣ sebagai respon terhadap antigen peptida (Qiagen, 2017).

Tes QFT – Plus dilakukan dalam 2 tahapan. Pertama, sampel darah pasien diambil dengan metode phlebotomi dan dimasukkan kedalam tabung pengkoleksian darah yang terdiri dari tabung Nil (tutup abu-abu), tabung TB1 (tutup hijau), tabung TB2 (tutup kuning), dan tabung Mitogen (tutup ungu). Sampel darah juga dapat diambil dalam sekali pengambilan kedalam tabung yang mengandung antikoagulan lithium-heparin baru setelah itu ditransfer ke masing-masing tabung koleksi darah khusus (Qiagen, 2017).

Tabung Nil adalah tabung kontrol negatif, sedangkan tabung Mitogen adalah tabung kontrol positif. Baik pada tabung TB1 maupun TB2 mengandung antigen ESAT - 6 dan CFP - 10 yang didesain untuk mencetuskan respon imun seluler dari sel limfosit Th_1 CD4+. Pada tabung TB2 terdapat peptida tambahan yang mampu mencetuskan respon imun seluler dari sel limfosit T sitotoksik CD8+ (Qiagen, 2017).

Setelah sampel darah dimasukkan ke masing-masing tabung, tabung kemudian dikocok untuk mencampur darah dengan antigen di dalam tabung. Setelah itu tabung diinkubasi pada suhu 37^0C pada kurun waktu 16 jam setelah sampel darah diambil. Tabung diinkubasi selama 16 sampai 24 jam, setelah itu disentrifugasi untuk memisahkan plasma nya. Plasma kemudian diambil menggunakan pipet untuk diukur kadar IFN - ɣ menggunakan ELISA. ELISA untuk QFT – Plus menggunakan standard rekombinan IFN - ɣ manusia yang telah diuji terhadap preparat referensi. Untuk kadar IFN - ɣ sendiri diukur dengan satuan *International Units* per milliliter (IU/ml) (Qiagen, 2017).

Tes QFT – Plus dinyatakan positif jika respon IFN - ɣ pada tabung TB1 dan TB2 lebih tinggi secara signifikan disbanding kadar IFN - ɣ pada tabung Nil. Sampel plasma pada tabung mitogen bertindak sebagai kontrol positif IFN - ɣ untuk

setiap spesimen yang diujikan. Respon yang rendah atau <0,5 IU/ml pada tabung mitogen mengindikasikan hasil yang *indeterminate* atau tidak dapat ditentukan apabila sampel darah memberikan hasil yang negatif pada tabung TB1 dan TB2. Hal ini dapat terjadi jika sampel darah memiliki kadar limfosit rendah, kurangnya aktivitas limfosit akibat penanganan sampel yang salah, kesalahan dalam pengisian tabung mitogen, atau pada keaadan dimana limfosit pasien memiliki ketidakmampuan untuk memproduksi IFN - ɣ (Qiagen, 2017).

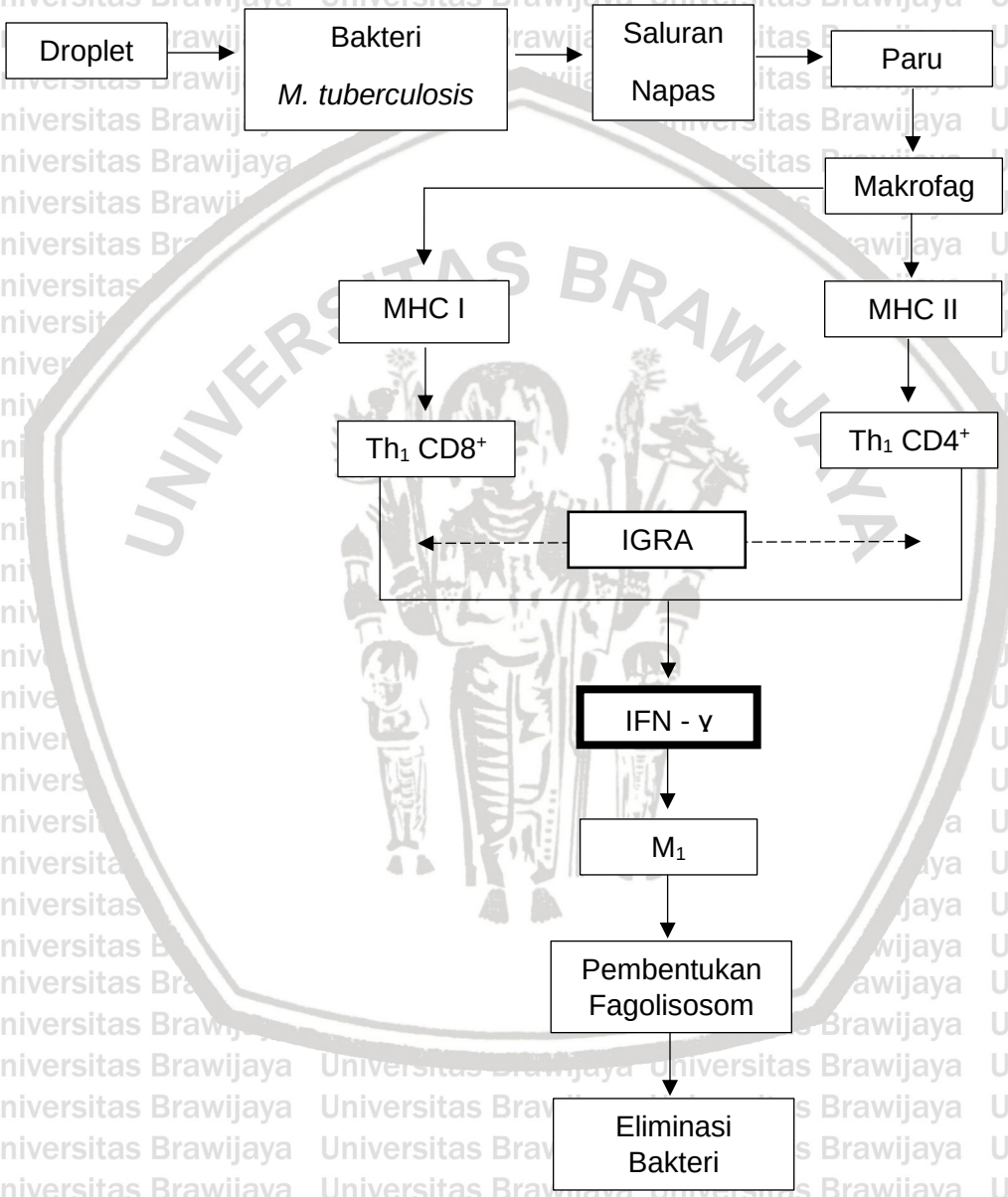
Tabung Nil menghitung kadar *background* IFN - ɣ misalnya peningkatan kadar IFN - ɣ akibat adanya antibodi heterofil. Antibodi heterofil adalah *human anti - mouse antibody* yang tedapat pada plasma beberapa orang. Untuk mencegah gangguan akiabt antibodi ini, pada saat dilakukan ELISA, ditambahkan serum normal tikus pada diluen hijau dan digunakan fragmen antibodi monoklonal F(ab')2 pada sumur mikroplat. Peningkatan kadar IFN - ɣ pada tabung Nil dapat dikarenakan adanya antibodi heterofil atau adanya sekresi IFN - ɣ intrinsik (Qiagen, 2017).

Untuk interpretasi tes QFT – Plus dikatakan positif, negatif, dan *indeterminate*. Hasil QFT – Plus dikatakan positif jika kadar IFN - ɣ pada tabung Nil ≤8,0 IU/ml, kadar pada tabung TB1 maupun TB2 dikurangi kadar pada tabung Nil ≥0,35 IU/ml atau ≥25% kadar pada tabung Nil. Hasil QFT – Plus dikatakan negatif jika kadar pada tabung Nil ≤8,0 IU/ml, kadar tabung Mitogen dikurangi kadar tabung Nil ≥0,5 IU/ml, dan kadar TB1 serta TB2 dikurangi kadar Nil <0,35 IU/ml atau <25% dari kadar Nil. Hasil QFT – Plus dikatakan *indeterminate* jika kadar pada tabung Nil >8,0 IU/ml, atau jika kadar tabung Nil ≤8,0 IU/ml disertai kadar tabung TB1 dan TB 2 <0,35 atau ≥0,35 atau <25% kadar Nil, serta nilai kadar tabung mitogen dikurangi tabung Nil <0,5 IU/ml (Qiagen, 2017).

BAB 3

KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan:

: Variabel yang diteliti

: Variabel yang tidak diteliti

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Penjelasan Kerangka Konsep:

Bakteri *M. tuberculosis* masuk melalui droplet, menuju saluran pernapasan ke paru. Di paru, bakteri akan ditangkap oleh APC paru salah satunya makrofag. Antigen spesifik bakteri MTB akan dipresentasikan oleh MHC kelas II yang ada di permukaan APC untuk dikenali sel Th_1. Presentasi antigen melalui MHC kelas II ke sel T CD4+ akan mengaktifkan reseptor sel T atau *T Cell Receptor* (TCR) yang spesifik terhadap kompleks antigen MHC – TBC. Hal ini akan memicu diferensiasi sel T CD4+ spesifik TBC menjadi sel T efektor dan sel T memori. Sel T efektor yang terdiferensiasi akan bermigrasi ke jaringan yang terinfeksi. Sel Th_1 CD4+ di pembuluh darah yang telah teraktivasi antigen MTB akan memproduksi sitokin pro - inflamasi IFN - ɣ. Selain sel Th_1 CD4+, selTh_1 CD8+ juga berperan dalam produksi IFN - ɣ. Produksi IFN - ɣ ini akan membantu polarisasi makrofag menjadi bentuk fenotip spesifik yaitu M_1. Makrofag M1 memungkinkan pembentukan fagolisosom yang mengekspresikan *Reactive Nitrogen Intermediates* (RNI) berupa oksigen radikal bebas dan nitrit oksida untuk mengeliminasi bakteri MTB di lokasi infeksi. Saat terjadi proses inflamasi pada pasien tuberkulosis, diperkirakan produksi IFN - ɣ meningkat untuk membantu pertahanan tubuh *host* dari bakteri penyebab TBC.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Desain Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian observasional analitik dengan rancangan *cross sectional* yang dilakukan di RSUD Dr. Saiful Anwar (RSSA) Malang pada periode Februari 2018– Juni 2019.

4.2. Populasi dan Sampel

Populasi adalah semua anak yang berobat ke Poli Respirologi Bagian Ilmu Kesehatan Anak RSSA Malang, sedangkan subyek penelitian adalah semua terduga penderita tuberkulosis anak pada kurun waktu Februari 2018 – Juni 2019 yang memenuhi kriteria inklusi serta mendapat izin untuk menjadi subjek penelitian oleh orangtua/wali pasien setelah menandatangani *informed consent*.

4.2.1. Kriteria Inklusi

1. Usia dibawah 15 tahun
2. Memenuhi kriteria diagnosis Tuberkulosis sesuai panduan diagnosis WHO berdasarkan hasil anamnesis, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan penunjang.
3. Anak dengan diagnosis klinis tuberkulosis oleh Dokter Spesialis Anak di Poli Respirologi Bagian Ilmu Kesehatan Anak RSSA Malang

4.2.2. Penghitungan Jumlah Subyek Penelitian

Besar sampel diperoleh berdasarkan kuota waktu dan perhitungan menimal menggunakan rumus berikut:

$$N = \frac{Za^2.P.(1-P)}{d^2}$$

Keterangan:

N = besar sampel

Za = deviasi baku alfa (nilainya 1,96 pada α = 0,05)

d = presisi penelitian, ditetapkan oleh peneliti sebesar 10% (0,1)

P = prevalensi penyakit = 22%

(Dahlan, 2009)

Besar sampel minimal:

$$N = \frac{1{,}96^2 0{,}22(1-0{,}78)}{0{,}1^2} = 65{,}5 \approx 66$$

Untuk keperluan analisis statistik, maka akan diambil sebanyak minimal 66 subyek. Pengambilan sampel menggunakan teknik *consecutive sampling* dengan rentang waktu Februari 2018– Juni 2019.

4.3. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di RSSA Malang pada periode Februari 2018 – Juni 2019.

4.4. Variabel Penelitian

Variabel yang diteliti adalah kadar IFN - ɣ yang dihasilkan oleh limfosit Th_1 CD4+ dan CD8+.

4.5. Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi Operasional	Metode	Nilai Normal
1.	IFN - ɣ	Sitokin pro – inflamasi yang dihasilkan oleh sel Th_1 CD4+ maupun CD8+ yang teraktivasi bakteri *M. tuberculosis*	IGRA QFT - Plus	1. Tabung Nil ≤8,0 IU/ml 2. Tabung TB1/TB2 dikurangi kadar pada tabung Nil ≥0,35 IU/ml atau ≥25% kadar pada tabung Nil.
2.	Penderita TBC Anak	Penderita dengan tanda dan gejala klinis TBC	Panduan diagnosis WHO oleh Dokter Spesialis Anak di Poli Respirologi Bagian Ilmu Kesehatan Anak RSSA Malang.	-
3.	Pemeriksaan IGRA	Pemeriksaan yang menggunakan *kit* pemeriksaan QuantiferonTB Gold Plus	ELISA	-

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

4.6. Alat dan Bahan

- **Untuk pengambilan sampel darah**

1. *Alcohol swab*
2. Turniket
3. *Vacutainer* berisi antikoagulan lithium-heparin
4. Tabung pemeriksaan QFT – Plus sejumlah 4 tabung yaitu: tabung Nil, tabung TB1, tabung TB2, dan tabung Mitogen.

- **Untuk pengukuran kadar IFN - ɣ**

1. Inkubator
2. Pipet
3. Set pemeriksaan ELISA QFT – Plus termasuk didalamnya sumur *plate*, larutan konjugat standar, *buffer,* larutan enzim substrat, dan larutan penghenti enzim.

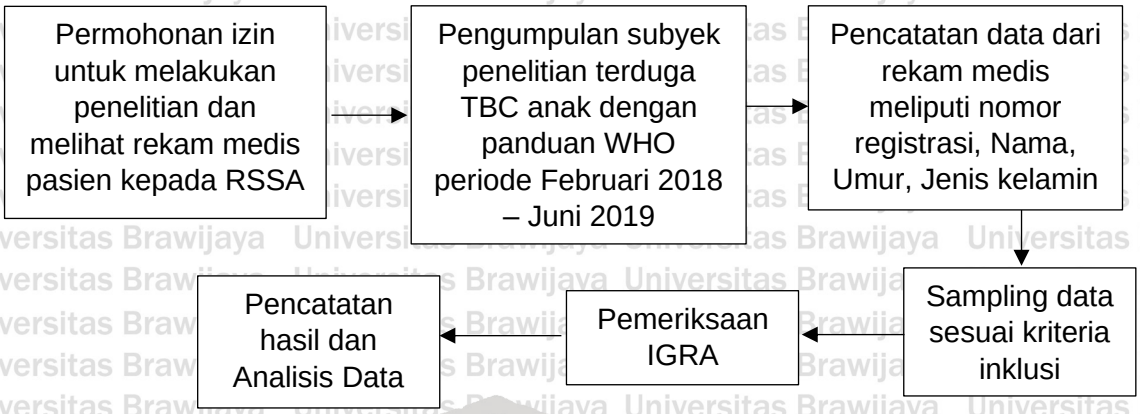
- **Untuk input dan pengolahan data**

1. Rekam Medis Pasien
2. Program operasi IBM SPSS *Statistics for Windows* ver. 25.

4.7. Metode Pengumpulan Data dan Prosedur Penelitian

4.7.1 Pengumpulan Data

Pada penelitian ini pengambilan sampel menggunakan teknik *consecutive sampling,* dimana setiap pasien yang memenuhi kriteria inklusi pada rentang waktu yang telah ditetapkan mendapatkan pemeriksaan IGRA. Setelah itu, data pasien akan dicatat beserta hasil pemeriksaan IGRA nya. Seluruh data yang masuk kemudian akan dianalisis menggunakan aplikasi IBM SPSS *Statistics for Windows* ver. 25.



4.7.2 Prosedur Penelitian

Secara umum, penelitian ini dibagi menjadi 2 tahap, yaitu tahap perizinan dan pengumpulan subyek serta tahap penelitian IGRA yang terdiri dari pengambilan sampel darah, pencampuran, inkubasi, ELISA, dan kalkulasi serta interpretasi hasil.

- **Perizinan dan pengumpulan subyek**

1) Permohonan izin untuk melakukan penelitian dan melihat rekam medik pasien pada RSSA.
2) Pengumpulan subyek penelitian yaitu pasien terduga TBC anak berdasarkan sistem skoring TBC anak serta meminta *informed consent* dari orangtua/wali pasien untuk diikutsertakan dalam penelitian.

- **Pengambilan Sampel Darah**

1) Pengambilan sampel darah vena pasien menggunakan vacutainer yang mengandung antikoagulan lithium-heparin sejumlah minimal 5 ml.

- **Pencampuran sampel darah dengan antigen pada tabung**

1) Darah dipindahkan masing-masing 0,8 – 1,2 ml (sesuai indicator pada tabung) kedalam 4 tabung QFT – Plus yaitu tabung Nil, tabung TB1, tabung TB2, dan

tabung mitogen. Pengisian tabung kurang atau melebihi indikator dapat mempengaruhi hasil pengukuran.

2) Tabung dikocok agar sampel darah tercampur dengan antigen dalam masing-masing tabung.

3) Data pasien ditulis pada masing-masing tabung.

- **Proses Inkubasi**

1) Keempat tabung diinkubasi pada suhu 37^{0}C pada kurun waktu maksimal 16 jam setelah sampel darah diambil selama 16 sampai 24 jam.

- **Proses ELISA**

a. Pengambilan Plasma

1) Tabung disentrifugasi selama 15 menit pada 2000 sampai 3000 RCF untuk memisahkan plasma dari sel.

2) Plasma diambil menggunakan pipet sebanyak setidaknya 150ɥl.

b. Persiapan ELISA

1) Semua sampel plasma dan reagen kecuali Konsentrat Konjugat 100x harus berada pada suhu ruang (220C±50C).

2) Strip ELISA yang tidak dibutuhkan dilepaskan dari *frame* dan disimpan

3) 1 strip disediakan untuk standard.

4) Larutan standard IFN - ɣ dilarutkan dengan volume air distilasi sesuai label pada vial.

5) Larutan ini dicampur perlahan untuk mencegah timbulnya busa dan memastikan seluruh isi vial telah larut. Rekonstitusi dari standard IFN - ɣ ini akan menghasilkan larutan dengan konsentrasi 8,0 IU/ml.

6) Dengan standard yang telah direkonstitusi ini, dibuat 4 pengenceran IFN - ɣ dengan larutan *green diluent* hingga mencapai 4 konsentrasi IFN - ɣ: S1 4.0

IU/ml, S2 1.0 IU/ml, S3 0,25 IU/ml, dan S4 0 IU/ml (hanya mengandung *green diluent*)

7) Konsentrat konjugat 100X dilarutkan dengan 0,3 ml air distilasi dan dicampurkan.

8) Larutan *green diluent* dilarutkan dengan konsentrat konjugat 100x yang telah dilarutkan dengan air sesuai tabel pada *package* insert kit ELISA untuk membuat konjugat *working strength*.

c. Prosedur ELISA

1) 50 ul konjugat *working strength* diteteskan pada masing-masing sumur pada *plate* ELISA.

2) 50 ul masing-masing sampel plasma diteteskan kedalam sumur *plate* ELISA sesuai *layout* yang tertera pada *package insert* kit pemeriksaan ELISA..

3) 50 ul larutan standard S1-S4 diteteskan kedalam sumur plate sesuai layout.

4) *Plate* ELISA ditutup dan dicampurkan isi sumur menggunakan *microplate shaker* selama 1 menit pada 500 -1000 rpm.

5) *Plate* ELISA QFT – Plus diinkubasi dengan suhu ruang (220C ± 50C) selama 120 menit.

6) 1 bagian konsentrat *wash buffer* dilarutkan dengan 19 bagian air distilasi.

7) Sumur ELISA dibilas dengan 400ul larutan *buffer* pencuci sebanyak 6 kali menggunakan *automated plate washer*.

8) Sisa larutan *buffer* pencuci dibuang kemudian ditambahkan 100ul larutan enzim substrat kedalam masing-masing sumur.

9) *Plate* ELISA ditutup dan dicampurkan isi sumur menggunakan *microplate shaker* selama 1 menit pada 500-1000 rpm.

10) *Plate* ELISA ditutup kemudian inkubasi dengan suhu ruang (220C ± 50C) selama 30 menit.

11) Setelah diinkubasi, ditambahkan 50ul larutan penghenti enzim kedalam masing-masing sumur.

12) *Plate* ELISA ditutup dan dicampurkan isi sumur menggunakan *microplate shaker* selama 1 menit pada 500-1000 rpm.

13) Isi sumur didiamkan selama 5 menit, lalu diletakkan *plate* pada *microplate reader*.

- **Kalkulasi dan interpretasi hasil**

1) Densitas optik masing-masing sumur diukurmenggunakan *microplate reader* dengan filter 450 nm dan *reference* filter 620-650 nm.

2) Hasil pembacaan densitas optik dimasukkan kedalam *software* analisis QFT-Plus untuk diinterpretasi

(Qiagen, 2017)

4.8. Pengolahan Data

.Uji diagnosis pada penelitian ini menggunakan kurva *Receiver Operating Characteristic* (ROC), yaitu kurva yang menggambarkan hubungan antara sensitivitas dan spesifitas sebuah tes pada berbagai titik potong. Dari prosedur ROC ini didapatkan *Area Under Curve* (AUC) untuk mengukur kebermanfaatan suatu pemeriksaan. Interpretasi AUC didapatkan dari pendekatan statistik, penentuan titik potong berdasarkan nilai sensitivitas dan spesifisitas yang paling baik, dan ditentukan sebagi nilai *cut-off.* Analisis ROC menggunakan aplikasi IBM SPSS *Statistics for Windows* ver. 25 (Dahlan, 2009).

Penghitungan spesifitas, sensitifitas, nilai duga positif, nilai duga negative rasio kemungkinan positif, rasio kemungkinan negative, dan akurasi dihitung dari analisa tabel 2 x 2 (Dahlan, 2009)

Tabel 4.1 Tabel 2x2 untuk kadar IFN-ɣ

		Referenced Standard **(berdasar gejala klinis)**		**Total**
		Positif	**Negatif**	
kadar IFN-ɣ	**> *cut-off* (IGRA positif)**	a	b	a + b
	< *cut-off* (IGRA negatif)	c	d	c + d
		a + c	b + d	n

Sensitifitas untuk kadar IFN-ɣ

$$\frac{\text{Jumlah penderita dengan gejala klinis positif TBC anak dan uji kadar IFN} - \gamma > cut - off\ (\text{a})}{\text{Jumlah semua penderita dengan gejala klinis positif (a + c)}}$$

Spesifisitas untuk kadar IFN-ɣ

$$\frac{\text{Jumlah penderita dengan gejala klinis negatif TBC anak dan uji kadar IFN} - \gamma < cut - off\ (\text{d})}{\text{Jumlah semua penderita dengan gejala klinis negatif (b + d)}}$$

Nilai duga positif untuk kadar IFN-ɣ

$$\frac{\text{Jumlah penderita dengan gejala klinis positif TBC anak dan uji kadar IFN} - \gamma > cut - off\ (\text{a})}{\text{Jumlah semua penderita dengan uji kadar IFN} - \gamma > cut - off\ (a + b)}$$

Nilai duga negatif untuk kadar IFN-ɣ

$$\frac{\text{Jumlah penderita dengan gejala klinis positif TBC anak dan uji kadar IFN} - \gamma > cut - off\ (\text{d})}{\text{Jumlah semua penderita dengan uji kadar IFN} - \gamma < cut - off\ (c + d)}$$

Rasio kemungkinan positif

$$\frac{\text{sensitivitas}}{(1 - \text{spesifisitas})}$$

Rasio kemungkinan negatif

$$\frac{(1 - \text{sensitivitas})}{\text{spesifisitas}}$$

Akurasi

$$\frac{(\text{a} + \text{d})}{\text{jumlah total sampel (n)}}$$

(Dahlan, 2009)

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1. Karakteristik Subyek Penelitian

Subyek penelitian adalah pasien anak terduga Tuberkulosis yang memenuhi kriteria inklusi sejumlah 80 orang. Sejumlah 8 subyek tidak memiliki data yang lengkap dan dieksklusi sehingga didapatkan jumlah subyek penelitian 72 orang. Karakteristik subyek penelitian dapat dilihat pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Karakteristik Subyek Penelitian

Karakteristik	n = 72
Jenis Kelamin	
Laki-laki	38/72
Perempuan	34/72
Usia	
0 - < 5 tahun	39/72
5 - < 10 tahun	19/72
10 - < 15 tahun	15/72
Status Gizi	
Gizi buruk	4/72
Gizi kurang	21/72
Gizi baik	39/72
Overweight	8/72
Diagnosis	
TB Paru	51/72
TB Ekstra Paru	13/72
Bukan TB	8/72
Hasil Pemeriksaan TST	
Positif	26/72
Negatif	38/72
TAP	8/72
Hasil Pemeriksaan IGRA	
Positif	21/72
Negatif	51/72
Hasil Pemeriksaan BTA Mikroskopis	
Positif	1/72
Negatif	71/72
Hasil Pemeriksaan Gen X-Pert	
Detected	2/72
Not Detected	70/72

Keterangan: TAP = Bahan pemeriksaan tidak tersedia sehingga pemeriksaan tidak dilakukan.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

5.2. Uji Diagnostik IGRA

5.2.1 Hasil Analisis Tabel 2x2

Hasil tabel 2x2 untuk pemeriksaan IGRA dapat dilihat pada tabel 5.2

Tabel 5.2 Tabel 2x2 untuk Pemeriksaan IGRA.

		Diagnosis Klinis		
		Klinis Positif	Klinis Negatif	Total
IGRA	positif	19	2	21
	negatif	45	6	51
Total		64	8	72

Dari tabel 2x2 dilakukan penghitungan dengan hasil:

Sensitifitas untuk pemeriksaan IGRA

$= \frac{19}{64} = 0{,}2968 = 29{,}7\%$

Spesifisitas untuk pemeriksaan IGRA

$= \frac{6}{8} = 0{,}75 = 75\%$

Nilai duga positif untuk pemeriksaan IGRA

$= \frac{19}{21} = 0{,}9047 = 90{,}1\%$

Nilai duga negatif untuk pemeriksaan IGRA

$= \frac{6}{51} = 0{,}1176 = 11{,}7\%$

Rasio kemungkinan positif

$$\frac{\text{sensitivitas}}{(1 - \text{spesifisitas})} = \frac{0{,}2968}{1 - 0{,}75} = 1{,}1872$$

Rasio kemungkinan negatif

$$\frac{(1 - \text{sensitivitas})}{\text{spesifisitas}} = \frac{1 - 0{,}2968}{0{,}75} = 0{,}9376$$

Akurasi

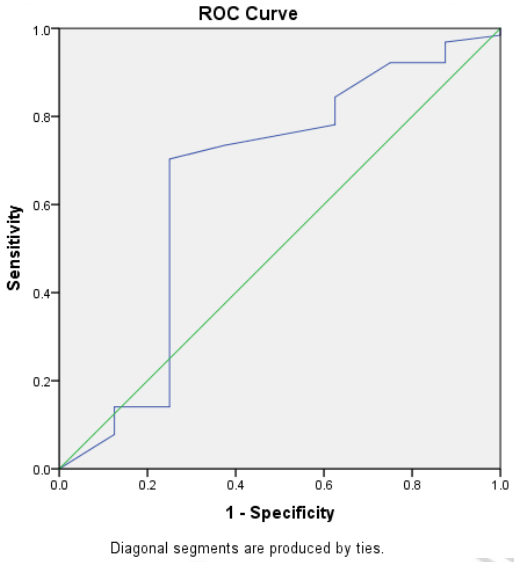
$$\frac{(a + d)}{\text{jumlah total sampel (n)}} = \frac{25}{72} = 0{,}3472 = 34{,}7\%$$

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

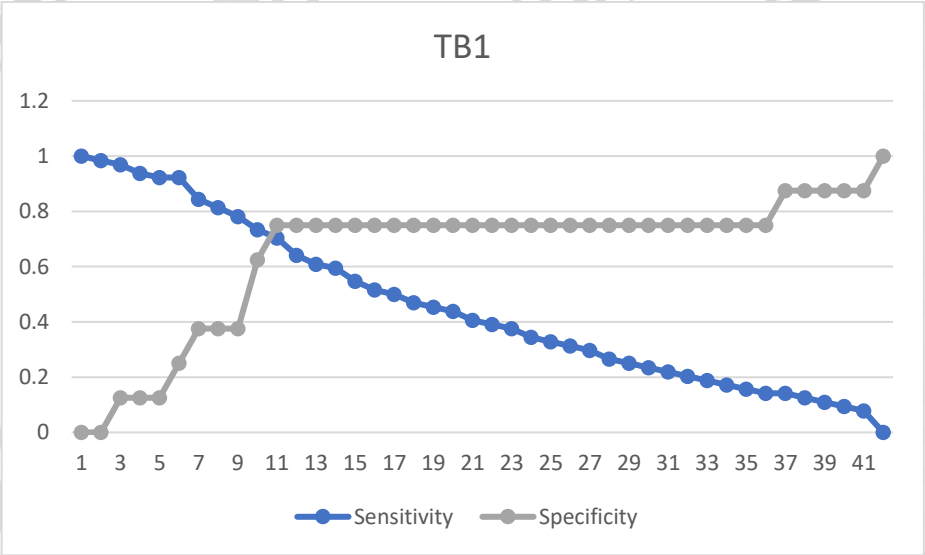
5.2.2 Hasil Analisis Kurva ROC IGRA

Pemeriksaan IGRA menghitung kadar IFN- ɣ yang dihasilkan oleh sel T baik CD4+ maupun CD8+. Sampel darah pasien dimasukkan kedalam 4 tabung yaitu tabung Nil. tabung TB1, tabung TB2, dan tabung Mitogen. Tabung Nil dan tabung Mitogen berperan sebagai kontrol. Baik tabung TB1 maupun TB2 mengandung antigen spesifik yang didesain untuk mencetuskan rilis IFN- ɣ oleh sel limfosit Th1 CD4+. Pada tabung TB2 terdapat peptida tambahan yang mampu mencetuskan rilis IFN- ɣ oleh sel T CD8+. Data pemeriksaan IGRA diolah menggunakan kurva ROC untuk mendapatkan nilai sensitivitas dan spesifisitas terbaik. Berdasarkan kurva ROC akan didapatkan AUC.

Kurva ROC TB1 dibuat untuk mengukur *cut-off* dari kadar IFN- ɣ yang dihasilkan oleh sel Th_1 CD4+. Kurva ROC TB1 dapat dilihat pada gambar 5.1. Berdasarkan kurva ROC untuk pemeriksaan IGRA TB1, didapatkan AUC sebesar 64,9% (IK 95%: 40,9 – 88,9%). Dari grafik tarik ulur nilai sensitivitas dan spesifisitas didapatkan nilai *cut-off* 0,095 dengan sensitivitas 70,3% dan spesifisitas 75% yang dapat dilihat pada gambar 5.2.



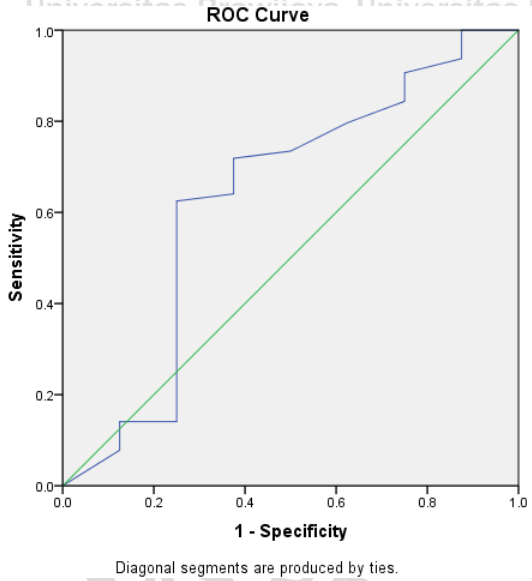
Gambar 5.1 Kurva ROC TB1



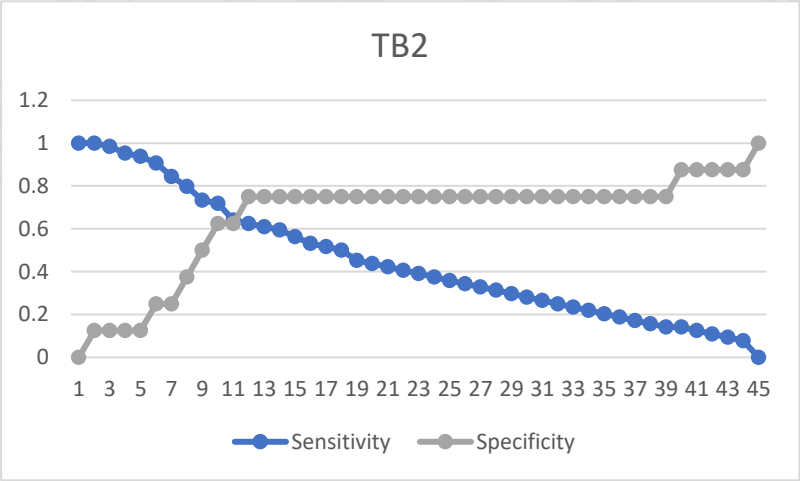
Gambar 5.2 Grafik tarik ulur sensitivitas dan spesifisitas TB1

Kurva ROC TB2 dibuat untuk mengukur *cut-off* dari kadar IFN- ɣ yang dihasilkan oleh sel Th_1 CD4+ dan CD8+. Kurva ROC TB2 dapat dilihat pada gambar 5.3.

Berdasarkan kurva ROC untuk pemeriksaan IGRA TB2, didapatkan AUC sebesar 63,1% (IK 95%: 39,3 – 86,9%). Dari grafik tarik ulur nilai sensitivitas dan spesifisitas didapatkan nilai *cut-off* 0,115 dengan sensitivitas 62,5% dan spesifisitas 75% yang dapat dilihat pada gambar 5.4.

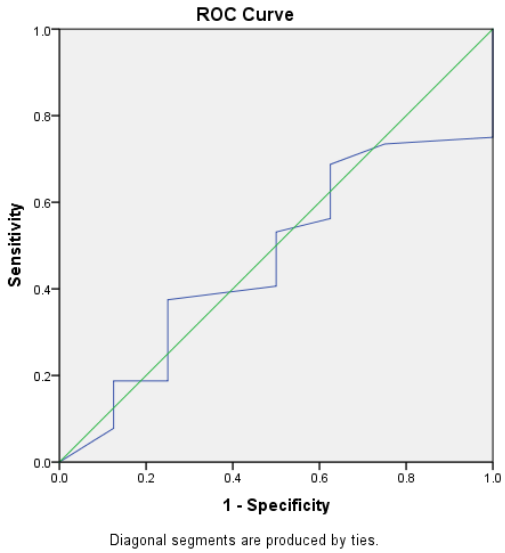


Gambar 5.3 Kurva ROC TB2

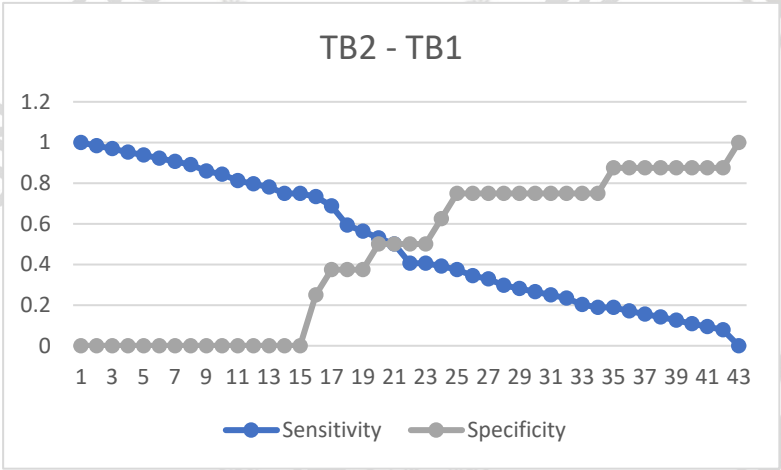


Gambar 5.4 Grafik tarik ulur sensitivitas dan spesifisitas TB2

Kurva ROC kadar TB2 dikurangi TB1 merupakan kadar IFN-ɣ yang dihasilkan oleh sel T CD8+ yang dihasilkan pada individu yang diduga mengidap TB. Kurva ROC yang dihasilkan bisa dilihat pada gambar 5.5. Berdasarkan kurva ROC untuk pemeriksaan IGRA TB2 – TB1, didapatkan AUC sebesar 46,9% (IK 95%: 27,8 – 66%). Dari grafik tarik ulur nilai sensitivitas dan spesifisitas didapatkan nilai *cut-off* 0,01 dengan sensitivitas 53,1% dan spesifisitas 50% yang dapat dilihat pada gambar 5.6.



Gambar 5.5 Kurva ROC TB2 – TB1



Gambar 5.6 Grafik tarik ulur sensitivitas dan spesifisitas TB2 — TB1

5.3 Hasil Analisis Tabel 2x2 TST

Hasil tabel 2x2 untuk pemeriksaan TST dapat dilihat pada tabel 5.3

Tabel 5.3 Tabel 2x2 untuk Pemeriksaan TST.

		Diagnosis Klinis		
		Klinis Positif	Klinis Negatif	Total
TST	positif	24	2	26
	negatif	32	6	38
	Total	56	8	64

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Dari tabel 2x2 dilakukan penghitungan dengan hasil:

Sensitifitas untuk pemeriksaan TST

$= \frac{24}{56} = 0{,}4286 = 42{,}8\%$

Spesifisitas untuk pemeriksaan TST

$= \frac{6}{8} = 0{,}75 = 75\%$

Nilai duga positif untuk pemeriksaan TST

$= \frac{24}{26} = 0{,}9231 = 92{,}3\%$

Nilai duga negatif untuk pemeriksaan TST

$= \frac{6}{38} = 0{,}1578 = 15{,}8\%$

Rasio kemungkinan positif

$$\frac{\text{sensitivitas}}{(1 - \text{spesifisitas})} = \frac{0{,}4286}{1 - 0{,}75} = 1{,}7143$$

Rasio kemungkinan negatif

$$\frac{(1 - \text{sensitivitas})}{\text{spesifisitas}} = \frac{1 - 0{,}4286}{0{,}75} = 0{,}7618$$

Akurasi

$$\frac{(\text{a} + \text{d})}{\text{jumlah total sampel (n)}} = \frac{30}{64} = 0{,}4687 = 46{,}8\%$$

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai diagnostik IGRA pada Tuberkulosis anak. Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan desain *cross-sectional* yang dilakukan di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang. Data yang digunakan berasal dari hasil pemeriksaan IGRA pasien anak yang memenuhi kriteria yang diambil pada periode Februari 2018 – April 2019. Data diolah menggunakan tabel 2x2 dan didapatkan sensitivitas, spesifisitas, nilai duga positif, nilai duga negatif, rasio kemungkinan positif, rasio kemungkinan negatif, serta akurasi. Data juga diolah menggunakan kurva ROC sehingga didapatkan nilai AUC berdasarkan tarik ulur sensitivitas dan spesifisitas.

6.1. Karakteristik Subyek Penelitian

Subyek penelitian ini adalah terduga penderita TBC yang memenuhi kriteria inklusi dan setuju untuk berpartisipasi pada penelitian ini setelah menandatangani *informed consent.* Didapatkan 80 subyek tetapi 8 subyek dieksklusi karena data rekam medis yang tidak lengkap sehingga hanya 72 subyek yang dijadikan subyek penelitian. Dari 72 pasien yang terdiagnosis klinis TBC, 51 pasien menderita TBC paru, 7 pasien menderita Limfadenitis TBC, dan 6 pasien menderita TBC pada sistem lain seperti meningitis TBC, osteomielitis TBC, dan lain-lain.

Dari total 72 subyek, penderita TBC banyak ditemukan pada kelompok usia 0-4 tahun. Hal ini sesuai dengan data dari Pusat Data dan Informasi Nasional (Pusdatin) Kemenkes RI tahun 2018 yang menunjukkan bahwa anak-anak usia dibawah 5 tahun lebih rentan terkena TBC. Anak-anak dibawah usia 5 tahun lebih rentan terkena TBC karena imunitas selulernya belum berkembang baik (Raharjoe, 2008).

Infeksi TBC berkaitan erat dengan respon imunitas seluler yang diperantarai oleh makrofag, sel T, dan sitokin seperti IFN - ɣ. Respon imunitas seluler terutama sel T memiliki peran penting pada infeksi TBC. Sel limfosit T CD4+ memiliki aktivitas regulatoris terhadap fungsi makrofag dan limfosit T CD8+ sitolitik. Respon imunitas seluler berupa aktivasi sitokin IFN - ɣ juga berperan penting terkait aktivasi makrofag agar mampu mengekspresikan fungsi mikrobisidalnya, meningkatkan presentasi antigen melalui induksi ekspresi molekul MHC kelas I dan II, serta meningkatkan diferensiasi limfosit T CD4+ (Calcavanti, 2012).

Dari 72 subyek didapatkan 38 subyek berjenis kelamin laki-laki akan tetapi dari 64 subyek yang terdiagnosis klinis menderita TBC, anak laki-laki maupun perempuan memiliki jumlah yang sama. Penelitian lain menunjukkan bahwa baik anak laki-laki maupun perempuan memiliki resiko yang sama untuk terinfeksi TBC karena jenis kelamin tidak mempengaruhi penularan maupun infeksi TBC (Pradani, 2018)

Dari 72 subyek, didapatkan 39 orang memiliki status gizi baik, 21 orang memiliki status gizi kurang, 4 orang memiliki status gizi buruk, dan 8 subyek mengalami kelebihan berat badan atau *overweight.* TBC pada umumnya dikaitkan dengan status gizi buruk. Hal ini dikarenakan karena pada anak dengan gizi buruk atau malnutrisi cenderung memiliki daya tahan tubuh yang lebih lemah sehingga lebih rentan terinfeksi TBC dan ketika terinfeksi cenderung menunjukkan gejala yang lebih parah (Jaganath, 2012).

Pada penelitian ini, didapatkan lebih banyak penderita TBC dengan status gizi baik. Meskipun status gizi buruk bisa menjadi salah satu faktor predisposisi terjadinya TBC, TBC juga dapat terjadi pada anak dengan status gizi baik karena status gizi bukanlah faktor penentu utama terjadinya TBC. Infeksi TBC juga dipengaruhi hal-hal lain seperti riwayat kontak TBC yang tidak diketahui

keluarga, lamanya menghirup udara tersebut, dan konsentrasi *droplet* yang dihirup (Supariasa, 2012).

Dari 72 subyek, hanya 21 subyek yang menunjukkan hasil IGRA yang positif. Dari 21 subyek, 11 diantaranya merupakan anak perempuan dan 18 diantaranya berusia diatas 5 tahun. Hal ini dapat terjadi terkait respon imunitas seluler yang lebih baik pada anak-anak yang berusia diatas 5 tahun (Raharjoe, 2008). IGRA mengukur respon imunitas seluler berupa IFN - ɣ. Penelitian oleh Nhamoyebonde di KwaZulu-Natal *Research Institute for Tuberculosis and HIV* pada tahun 2014 menunjukkan respon sel Th_1 yang terkait produksi sitokin IFN - ɣ dipengaruhi oleh faktor hormonal. Level hormon testosteron dan estrogen dierkiran memiliki efek regulatoris pada respon sel Th_1. Testosteron memiliki efek *down-regulation* pada respon imun yang diperantarai sel Th_1 sementara estrogen memiliki efek meningkatkan diferensiasi Th_1 dan produksi sitokin seperti IFN - ɣ yang merupakan respon imun yang diukur pada pemeriksaan IGRA (Nhamoyebonde, 2014).

Selain IGRA, pada 72 subyek juga dilakukan pemeriksaan penunjang diagnosis TBC berupa TST, Gen X-Pert, dan BTA mikroskopis. Untuk pemeriksaan TST, dari 64 subyek hanya 26 orang yang memiliki hasil positif. Pada pemeriksaan TST pada anak, sangat mungkin didapatkan hasil negatif palsu karena beberapa faktor terkait imunitas anak seperti infeksi TBC yang terjadi kurang dari 10 minggu setelah eksposur, infeksi TBC laten yang muncul bertahun-tahun setelah eksposur, usia anak dibawah 6 bulan, serta anak yang baru mendapatkan imunisasi dengan virus yang dilemahkan seperti campak (CDC, 2011).

Untuk pemeriksaan Gen X-Pert, dari 72 subyek hanya 2 orang terdeteksi keberadaan bakteri yang *low detected*. Hasil pemeriksaan yang negatif dapat disebabkan karena pengambilan sampel sputum yang sulit pada anak-anak

sehingga terkadang sampel harus diambil dari hasil induksi sputum maupun aspirasi Selain itu, hasil negatif juga dapat ditimbulkan oleh penanganan sampel yang kurang baik di laboratorium karena pemeriksaan Gen X-Pert yang berbasis PCR sangat rentan terhadap terjadinya kontaminasi (Yang, 2004).

Untuk pemeriksaan BTA mikroskopis, dari 72 subyek, hanya 1 orang yang mendapatkan hasil positif ditemukan bakteri MTB dari pemeriksaan mikroskop. Pada anak, pemeriksaan BTA mikroskopis sering menimbulkan hasil yang negatif karena beberapa faktor. Pertama, sama halnya dengan Gen X-Pert, pengambilan sampel sputum pada anak cenderung lebih sulit dibandingkan dengan orang dewasa. Kedua, hasil pemeriksaan mikroskopis anak cenderung menunjukkan hasil pausibasiler dimana hanya sedikit sekali bakteri yang dapat terdeteksi (CDC *Core Curriculum on Tuberculosis*, 2013). Ketiga, seperti Gen X-Pert, penanganan sampel sputum yang kurang baik juga dapat menimbulkan hasil negatif (Yang, 2004).

6.2. Uji Diagnosis IGRA

6.2.1. Analisis dengan Tabel 2x2

Sensitivitas menggambarkan kemampuan suatu pemeriksaan untuk menghasilkan hasil yang positif pada pasien yang positif mengidap suatu penyakit. Dari penghitungan rumus berdasarkan tabel 2x2, didapatkan sensitivitas pemeriksaan IGRA untuk mendiagnosis TBC pada anak sebesar 29,7% yang berarti masih kurang sensitif dalam mendiagnosis TBC anak dan memiliki kemungkinan untuk menghasilkan hasil yang positif pada pasien yang mengidap penyakit lain. Jika dibandingkan TST, TST memiliki sensitivitas yang cenderung lebih baik yaitu 42,8%.

Spesifisitas menggambarkan kemampuan suatu pemeriksaan untuk menghasilkan hasil yang negatif pada pasien yang tidak mengidap penyakit. Dari

penghitungan rumus berdasarkan tabel 2x2, didapatkan spesifisitas pemeriksaan IGRA untuk mendiagnosis TBC pada anak sebesar 75%. Pemeriksaan TST memiliki spesifitas yang sama dengan IGRA. Pemeriksaan IGRA cukup spesifik dalam mendiagnosis TBC pada anak.

Hasil sensitivitas dan spesifisitas pemeriksaan IGRA pada penelitian ini berbeda dengan beberapa penelitian sebelumnya. Penelitian oleh Takasaki et al. (2017) dilakukan pada 99 pasien positif TBC dan 117 subjek kontrol yang sehat di Tokyo, Jepang. Hasil penelitian menunjukkan sensitivitas 98,9% dan spesifisitas IGRA 98,1% pada orang dewasa dengan TBC laten (Takasaki, 2017). Hasil pada penelitian ini menunjukkan sensitivitas dan spesifisitas yang lebih tinggi karena pemilihan subjek orang dewasa dengan TBC laten sedangkan penelitian yang dilakukan penulis menggunakan subyek penderita anak dengan TBC aktif dimana anak-anak memiliki respon imunitas seluler yang tidak sebaik orang dewasa.

Penelitian lain oleh Kay (2018) dilakukan pada 778 subjek pasien anak terduga TBC di California, Amerika Serikat. Hasil penelitian tersebut menunjukkan sensitivitas 96% untuk diagnosis TBC Anak yang berusia diatas 5 tahun. Hal ini sejalan dengan penelitian penulis dimana dari 21 subyek yang memiliki hasil IGRA positif, 18 diantaranya berusia diatas 5 tahun (Kay, 2018). Hal ini mungkin terjadi karena pemeriksaan IGRA yang didasarkan oleh respon imunitas seluler, dimana respon imunitas seluler orang dewasa cenderung lebih baik dan responsif dibanding anak-anak.

Sensitivitas dan spesifisitas dapat menunjukkan kebermanfaatan suatu pemeriksaan untuk mendiagnosis suatu penyakit. Namun, ada parameter yang lebih baik yaitu nilai duga positif dan nilai duga negatif karena ketika melakukan suatu pemeriksaan, harus ditelaah apabila hasil yang ditunjukkan benar-benar

positif atau negatif. Kebenaran itu bisa dinilai dengan nilai duga positif dan nilai duga negatif (Dahlan, 2009).

Nilai duga positif menunjukkan ketepatan pemeriksaan untuk menunjukkan hasil yang benar-benar positif. Dari penghitungan rumus berdasarkan tabel 2x2, didapatkan nilai duga positif pemeriksaan IGRA sebesar 90,1%. Artinya, hasil positif yang didapatkan dari pemeriksaan IGRA kemungkinan besar benar-benar menunjukkan hasil yang positif. Pemeriksaan TST sendiri memiliki nilai duga positif 92,3%, sedikit lebih baik dibandingkan dengan IGRA.

Nilai duga negatif sebagaimana nilai duga positif, menunjukkan ketepatan pemeriksaan untuk menunjukkan hasil yang benar-benar negatif. Dari penghitungan rumus berdasarkan tabel 2x2, didapatkan nilai duga negatif pemeriksaan IGRA sebesar 11,7%. Artinya, hasil negatif yang didapatkan dari pemeriksaan IGRA mungkin saja tidak menunjukkan hasil negatif yang sebenarnya. Nilai duga negatif pemeriksaan TST menunjukkan hasil yang sedikit lebih baik pada angka 15,8%.

Nilai duga positif dan nilai duga negatif sangat dipengaruhi oleh prevalensi penyakit. Nilai ini akan berbeda jika dilakukan pada populasi dengan prevalensi yang berbeda. Oleh karena itu dilakukan perhitungan parameter yang tidak dipengaruhi oleh prevalensi yaitu rasio kemungkinan negatif dan rasio kemungkinan positif (Dahlan, 2009).

Rasio kemungkinan positif menunjukkan perbandingan antara hasil yang positif pada pasien yang positif menderita suatu penyakit dengan hasil positif yang ditemukan pada pasien yang sebenarnya tidak menderita penyakit tersebut. Dari penghitungan rumus berdasarkan tabel 2x2 didapatkan rasio kemungkinan positif pemeriksaan IGRA sebesar 1,187. Pada umumnya, nilai rasio kemungkinan positif yang diharapkan diatas 10. Pemeriksaan TST sendiri memiliki rasio kemungkinan positif sebesar 1,714. Artinya, baik pemeriksaan

IGRA maupun TST masih memiliki kemungkinan menunjukkan hasil yang positif palsu karena menunjukkan hasil yang positif pada pasien yang sebenarnya tidak menderita TBC.

Rasio kemungkinan negatif menunjukkan perbandingan antara hasil negatif pada pasien yang sebenarnya menderita suatu penyakit dengan hasil negatif pada pasien yang benar-benar tidak menderita penyakit tersebut. Dari perhitungan rumus berdasarkan tabel 2x2, didapatkan rasio kemungkinan negatif pemeriksaan IGRA sebesar 0,937. Pada umumnya, nilai rasio kemungkinan negatif yang diharapkan dibawah 0,1. Pemeriksaan TST sendiri memiliki rasio kemungkinan negatif 0,7618. Artinya, pemeriksaan IGRA masih memiliki kemungkinan menunjukkan hasil yang negatif palsu lebih besar dibandingkan TST karena menunjukkan hasil yang negatif pada pasien yang sebenarnya menderita TBC.

Akurasi menggambarkan *true value* atau hasil tes yang benar dari semua yang diperiksa. Dari perhitungan rumus berdasarkan tabel 2x2, didapatkan akurasi pemeriksaan IGRA sebesar 34,7% sedangkan akurasi pemeriksaan TST sebesar 46,8%. Artinya, pemeriksaan IGRA masih kurang akurat dibandingkan dengan TST untuk dipakai mendiagnosis TBC pada anak.

Dari hasil perhitungan tabel 2x2, didapatkan bahwa pemeriksaan IGRA meskipun memiliki spesifisitas yang baik pada TBC anak, sensitivitasnya rendah, rasio kemungkinan positif nya rendah, rasio kemungkinan negatifnya tinggi, serta akurasinya rendah jika dibandingkan dengan pemeriksaan TST.

6.2.2. Analisis dengan Kurva ROC

Dari hasil kurva ROC akan didapatkan AUC yang berasal dari tarik ulur sensitivitas dan spesifisitas. Ordinat atau sumbu y dari grafik ROC menggambarkan 1 – spesifisitas atau *false positive rate* (hasil negatif palsu) dari

suatu pemeriksaan. Spesifisitas atau *true negative rate* (hasil negatif asli) dapat diperoleh dari hasil 1 – (1 – spesifisitas). Sementara absis atau sumbu x pada grafik ROC menunjukkan nilai sensitivitas atau *true positive rate* (hasil positif asli) dari pemeriksaan.

Nilai AUC dikatakan baik jika mendekati pojok kiri atas dari grafik atau area hasil positif asli. AUC dengan nilai mendekati 100% akan semakin mendekati area ini dan dikatakan sensitif dalam mendiagnosis suatu penyakit. Jika grafik AUC mendekati pojok kanan bawah karena nilainya mendekati atau kurang dari 50%, maka dikatakan pemeriksaan itu memiliki hasil yang kurang informatif atau *gambling* (Dahlan, 2009).

Analisis kurva ROC terhadap IFN- ɣ CD4+ atau TB1 menghasilkan AUC sebesar 64,9%. Artinya dalam mengukur kadar IFN- ɣ CD4+ pada 100 pasien, pemeriksaan IGRA akan menunjukkan hasil yang tepat pada 65 orang.

Analisis kurva ROC terhadap IFN- ɣ CD4+ dan CD8+ atau TB2 menghasilkan AUC sebesar 63,1%. Artinya dalam mengukur kadar IFN- ɣ CD4+ dan CD8+ pada 100 pasien, pemeriksaan IGRA akan menunjukkan hasil yang tepat pada 63 orang.

Analisis kurva ROC terhadap IFN-ɣ CD8+ atau TB2 – TB1 didapatkan AUC sebesar 46,9%. Artinya dalam mengukur kadar IFN- ɣ CD8+ pada 100 pasien, pemeriksaan IGRA akan menunjukkan hasil yang tepat pada 47 orang.

Ketiga AUC dari pemeriksaan IGRA menunjukkan hasil tidak mendekati 100% sehingga pemeriksaan IGRA bisa dikatakan kurang sensitif dalam mendiagnosis TBC anak.

Dari kurva ROC, dibuat grafik tarik ulur yang berasal dari berbagai nilai sensitivitas dan spesifisitas untuk menentukan nilai *cut-off*. Produsen pemeriksaan IGRA, Qiagen, telah menetapkan *cut-off* untuk menentukan hasil positif dan negatif. Hasil QFT – Plus dikatakan positif jika kadar IFN - ɣ pada tabung Nil ≤8,0

IU/ml, kadar pada tabung TB1 maupun TB2 dikurangi kadar pada tabung Nil sama dengan atau melebihi nilai *cut-off* 0,35 IU/ml (Qiagen, 2017).

Dari grafik tarik ulur sensitivitas dan spesifisitas didapatkan nilai *cut-off* untuk kadar IFN- ɣ CD4+ pada tabung TB1 sebesar 0,095 IU/ml, lebih rendah dari *cut-off* yang sudah ditetapkan. Dengan *cut-off* 0,095 IU/ml, didapatkan sensitivitas 70,3% dan spesifisitas 75%. Nilai *cut-off* ini memberikan nilai sensitivitas dan spesifisitas yang cukup berimbang. Jika menggunakan *cut-off* 0,35 IU/ml, akan didapatkan spesifisitas yang sama yaitu 75%, akan tetapi sensitivitasnya lemah yaitu 37,5%.

Penghitungan nilai *cut-off* untuk kadar IFN- ɣ CD4+ dan CD8+pada tabung TB2 sebesar 0,115 IU/ml, lebih rendah dari *cut-off* yang sudah ditetapkan. Dengan *cut-off* 0,115 IU/ml, didapatkan sensitivitas 62,5% dan spesifisitas 75%. Nilai *cut-off* ini memberikan nilai sensitivitas dan spesifisitas yang cukup berimbang. Jika menggunakan *cut-off* 0,35 IU/ml, akan didapatkan spesifisitas yang sama yaitu 75%, akan tetapi sensitivitasnya lemah yaitu 39,1%.

Penghitungan nilai *cut-off* untuk kadar IFN- ɣ CD8+pada tabung TB2 – TB 1 sebesar 0,01 IU/ml. Dengan *cut-off* 0,115 IU/ml, didapatkan sensitivitas 53,1% dan spesifisitas 50%. Nilai *cut-off* ini memberikan nilai sensitivitas dan spesifisitas yang cukup berimbang. Akan tetapi, pada pemeriksaan IGRA parameter CD8+ secara tunggal tidak digunakan untuk menentukan hasil positif dan negatif. Hal ini karena respon IFN- ɣ yang dihasilkan sel Th_1 CD4+ berperan lebih dominan dibandingan dengan IFN- ɣ yang dihasilkan oleh sel T CD8+ (Calcavanti, 2012).

Dari ketiga grafik tarik ulur sensitivitas dan spesifisitas didapatkan nilai *cut-off* lebih rendah dibandingkan nilai *cut-off* yang sudah ditetapkan. Nilai *cut-off* 0,35 IU/ml yang sudah ditetapkan produsen mampu menghasilkan hasil pemeriksaan yang spesifik, namun kurang sensitif. Meskipun cukup spesifik dalam

mendiagnosis TBC, dengan nilai *cut-off* yang berlaku pemeriksaan IGRA masih kurang sensitif untuk menunjukkan hasil yang positif pada pasien anak yang benar-benar terinfeksi TBC karena respon imunitas seluler anak-anak yang cenderung lebih lemah dibandingkan dengan orang dewasa.

6.3. Implikasi terhadap Bidang Kedokteran

Penelitian ini dilakukan untuk menentukan nilai diagnostik dari pemeriksaan IGRA dengan metode QFT - Plus. Dari hasil penelitian ini didapatkan bahwa pemeriksaan IGRA memiliki nilai diagnostik yang lemah untuk diaplikasikan kepada masyarakat. Oleh karena itu, pemeriksaan IGRA sebaiknya tidak dijadikan penentu diagnosis TBC pada anak di negara berkembang. Hal ini dikarenakan pada negara berkembang, prevalensi penderita TBC anak lebih banyak pada usia dibawah 5 tahun yang respon imun selulernya belum berkembang dengan baik.

6.4. Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan penelitian ini adalah hasil pemeriksaan baku emas berupa pemeriksaan BTA mikroskopik hampir seluruhnya menununjukkan hasil yang negatif, sehingga keberadaan bakteri MTB tidak dapat dikonfirmasi. Oleh karena itu, pemeriksaan IGRA dibandingkan dengan *referenced standard* berupa diagnosis klinis. Karena tidak ada pembanding yang terstandar, hasil penelitian ini kurang baik untuk digeneralisasi.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

1. Pemeriksaan IGRA menggunakan metode QFT – Plus mempunyai performa diagnostik yang lemah pada Tuberkulosis anak.
2. Sensitivitas pemeriksaan IGRA pada Tuberkulosis anak sebesar 29,7%.
3. Spesifisitas pemeriksaan IGRA pada Tuberkulosis anak sebesar 75%.
4. Nilai duga positif pemeriksaan IGRA pada Tuberkulosis anak sebesar 90,1%.
5. Nilai duga negatif pemeriksaan IGRA pada Tuberkulosis anak sebesar 11,7%.
6. Rasio kemungkinan positif pemeriksaan IGRA pada Tuberkulosis anak sebesar 1,1872.
7. Rasio kemungkinan negatif pemeriksaan IGRA pada Tuberkulosis anak sebesar 0,9376.
8. Akurasi pemeriksaan IGRA pada Tuberkulosis anak sebesar 34,7%.
9. Performa diagnostik pemeriksaan TST lebih baik daripada pemeriksaan IGRA dengan sensitivitas 42,8%, spesifisitas 75%, dan akurasi 46,8%.
10. *Area Under Curve* pemeriksaan IGRA sebesar 64,9% pada tabung TB1, 63,1% pada tabung TB2, dan 46,9% pada tabung TB2 – TB1.
11. *Cut-off* pemeriksaan IGRA pada TBC anak lebih rendah daripada *cut-off* pemeriksaan IGRA pada TBC dewasa yaitu: 0,095 IU/ml pada tabung TB1 dan 0,115 IU/ml pada tabung TB2.

7.2 Saran

1. Penelitian lebih lanjut mengenai performa diagnostik IGRA pada Tuberkulosis anak dengan lebih banyak subjek yang terkonfirmasi menderita Tuberkulosis anak oleh pemeriksaan bakteri tahan asam agar

pemeriksaan IGRA bisa dibandingkan dengan pemeriksaan baku emas diagnosis Tuberkulosis.

DAFTAR PUSTAKA

Amin, Z., dan Bahar, A. 2009. *Tuberkulosis Paru.* dalam Sudoyo, A.W., Setyohadi, B., Alwi, I., Simadibrata, M., dan Setiati, S., *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Edisi V Jilid II.* Jakarta: Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam

Calcavanti, Y.V.N., Brelaz, M.C.A., Neves, J.K.A.L., Ferraz, J.C., and Pereira, V.R.A. 2012. *Review Article: Role of TNF – Alpha, IFN – Gamma, and IL – 10 in the Development of Pulmonary Tuberculosis.* Hindawi Publishing Corporation Journal of Pulmonary Medicine p. 1-10.

Centers for Disease Control and Prevention. 2013. *Introduction to the Core Curriculum on Tuberculosis: What the Clinician Should Know.* Edisi ke- 6. Atlanta: *Centers for Disease Control and Prevention Division of Tuberculosis Elimination.*

Centers for Disease Control and Prevention. 2011. *TB Elimination: Tuberculin Skin Testing.* Atlanta: *Centers for Disease Control and Prevention Division of Tuberculosis Elimination.* Diakses dari https://www.cdc.gov/tb/publications/factsheets/testing/skintesting.pdf pada Oktober 2019

Dahlan, M.S. 2009. *Penelitian Diagnostik: Dasar-dasar Teoritis dan Aplikasi dengan Program SPSS dan Stata.* Jakarta: Penerbit Salemba Medika.

Dinas Kesehatan Kota Malang. 2015. *Profil Kesehatan Kota Malang Tahun 2014.* Malang: Dinas Kesehatan Kota Malang. Diakses dari http://www.depkes.go.id/resources/download/profil/PROFIL_KAB_KOTA_2014/3573_Jatim_Kota_Malang_2014.pdf/ pada Maret 2018.

Doan, T.N., Elsen, D.P, Rose, M.T., Slack, A., Stearnes, G., and McBryde, E.S. 2017. *Interferon-gamma release assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection: A latent-class analysis.* PLoS ONE 12(11):e0188631

Jaganath, D., and Mupere, E. 2012. *Childhood tuberculosis and malnutrition. The Journal of Infectious Diseases* 206:1809-15

Kartasasmita, C.B. 2009. *Epidemiologi Tuberkulosis.* Sari Pediatri 11(2). p. 124 – 129.

Kawamura, L.M. 2017. *QuantiFERON-TB Gold Plus: The 4th Generation IGRA.* Diakses dari https://www.who.int/tb/areas-of-work/preventive-care/ltbi/mk.pdf pada Agustus 2018.

Kay, A.W., Islam, S.M., Wendorf, K., Westenhouse, J., and Barry, P.M. 2018. *Interferon-γ Release Assay Performance for Tuberculosis in Childhood. Pediatrics* 141(8):e20173918

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2016. *Petunjuk Teknis Manajemen dan Tatalaksana TB Anak.* Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2018. *Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI (InfoDATIN).* Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.

Machingadze, S., Wiysonge, C.S., Gonzalez-Angulo, Y., Hatherill, M., Moyo, S., Hanekom, W., and Mahomed, H. 2011. *The Utility of an Interferon Gamma Release Assay for Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection and Disease in Children: A Systematic Review and Meta-analysis. Pediatric Infectious Disease Journal* 30(8) p.1-3.

Mandalakas, A., Benedetti, A., Detjen, A., Hesseling, A.C., and Menzies, D. 2011. *Interferon-gamma Release Assays and Childhood Tuberculosis: systematic review and meta-analysis.* The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease 15(8) p. 1018-1032..

Nhamoyebonde, S., and Leslie, A. 2014. *Biological differences between the sexes and susceptibility to tuberculosis.The Journal of Infectious Diseases* 209(S3):S100-6.

Perhimpunan Dokter Paru Indonesia. 2006. *Konsensus mengenai Tuberkulosis: Pedoman Diagnosis dan Penatalaksanaan di Indonesia. Jakarta: Perhimpunan Dokter Paru Indonesia*. Diakses dari https://www.klikpdpi.com/konsensus/tb/tb.html pada Maret 2018

QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT – Plus) *Package Insert.* Dikeluarkan oleh QIAGEN tahun 2017. Diakses dari http://www.quantiferon.com/wp-content/uploads/2017/10/QFT-Plus-ELISA-IFU-L1095849-R02.pdf

Raharjoe, N. 2008. *Buku Ajar Respirologi Anak Edisi – 1.* Jakarta: Ikatan Dokter Anak Indonesia (IDAI).

Raviglione, M.C., and O'Brien, R.J. 2013. *Tuberculosis*. dalam Loscalzo, J. *Harrison's Pulmonary and Critical Medicine 2nd Edition.* New York: McGraw – Hill Education, LLC.

Pradani, S.A., dan Kundarto, W. 2018. *Evaluasi ketepatan obat dan dosis obat anti tuberkulosis pada pasien anak di instalasi rawat jalan RSUD Dr. Moewardi Surakarta periode 2016-2017. Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research* 02:93-103.

Supariasa, D. 2012. *Buku Penilaian Status Gizi.* Jakarta: Penerbit EGC.

Takasaki, J., Manabe, T., Morino, E., Muto, Y., Hashimoto, M., Iikura, M., Izumi, S., Sugiyama, H., and Kudo, K. 2017. *Sensitivity and specificity of QuantiFERON – TB Gold Plus compared with QuantiFERON – TB Gold-In-Tube and T-SPOT.TB on active tuberculosis in Japan. Elsevier Journal of Infection and Chemotherapy* p. 1-5.

Whitworth, H.S., Scott, M., Connell, D.W., Donges, B., and Lalvani, A. 2013. *IGRAs – The gateway to T cell based TB diagnosis.* Elsevier Journal..

World Health Organization. 2014. *Guidance for national tuberculosis programmes on the management of tuberculosis in children, 2nd Edition*. Geneva: *World Health Organization.*

World Health Organization. 2018. *Global Tuberculosis Report* 2018. Geneva: *World Health Organization.*

Yang, S., and Rothman, R.E. 2004. *PCR-based diagnostics for infectious diseases: uses, limitations, and future applications in acute care settings.* The Lancet Vol. 4.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA