

## DETEKSI ANTIBODI DENGAN MENGGUNAKAN ANTIGEN YANG DISEKRESIKAN (ANTIGEN 85B) PADA SERUM PENDERITA TUBERKULOSIS

Netti Suharti<sup>1</sup>, Yulia Rosa<sup>2</sup>

### ABSTRAK

Protein 85B merupakan protein yang disekresikan oleh *M. tuberculosis*. Keberadaan protein ini diharapkan dapat dideteksi secara dini pada serum penderita tuberkulosis, yakni dengan cara melihat adanya IgG dan IgM spesifik terhadap antigen 85B dalam serum penderita tuberkulosis.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah IgG dan IgM spesifik terhadap antigen 85 B dapat dideteksi pada serum penderita tuberkulosis, sehingga antigen ini dapat digunakan sebagai alat bantu diagnostik pada penderita tuberkulosis secara dini.

Sampel diambil dari serum 30 penderita TB paru, 30 penderita penyakit paru yang lain dengan BTA (-), 60 penderita lepra (30 TT dan 30 LL), serta 30 individu yang dinyatakan sehat secara klinis. Diagnosis TB berdasarkan atas gambaran klinis, pemeriksaan BTA, gambaran radiologis dan belum ada komplikasi penyakit. Pemeriksaan IgG dan IgM spesifik dilakukan dengan metode ELISA dengan menggunakan antigen 85B *M. tuberculosis*.

IgG anti 85B mempunyai sensitivitas 60 %, spesifisitas 83,3 %, dan antigen ini dapat membedakan antara TB paru dengan kontrol sehat, lepra tipe LL dan TT, tetapi IgG anti 85B ini tidak dapat membedakan antara TB paru dengan penyakit paru lain non TB. Pemeriksaan IgM anti 85B didapatkan hasil sensitivitas yang sangat rendah, yakni 0 %, dan IgM anti 85B ini tidak dapat membedakan antara masing-masing kelompok penelitian. Hasil penelitian menunjukkan bahwa IgG spesifik terhadap antigen 85B *M.tuberculosis* dapat dideteksi pada pasien tuberkulosis, namun oleh karena sensitivitas dan spesifisitasnya yang rendah, antigen ini tidak dapat digunakan untuk alat bantu diagnostik pada penderita tuberkulosis secara dini.

**Keywords:** *Tuberculosis – diagnostic – ELISA – specific IgG – 85B antigen*

<sup>1</sup> Bagian Mikrobiologi FK – Unand Padang.

<sup>2</sup> Bagian Mikrobiologi FK- Unand Padang

## ABSTRACT

**DETECTION OF ANTIBODY USED BY ANTIGEN THAT SECRETED  
( 85B ANTIGEN) IN SERA FROM TUBERCULOSIS PATIENTS**

Netti Suharti dan Yulia Rosa

85 B protein is secreted protein, that secreted by *M. tuberculosis*. Existenced that protein was hoped can detected early on tuberculosis patient serum, by detecting IgG and IgM to 85 B antigen.

To develop a diagnostic tool for tuberculosis, this study was performed by detecting antibody specific IgG and IgM against *M. tuberculosis* antigen in tuberculosis patients.

Sera were collected from 30 tuberculosis patients, 30 patients with other lung disease but negative acid fast bacilli, 60 leprosy patients ( 30 TT and 30 LL ), and 30 healthy controls. Diagnosis of tuberculosis based on clinical features, positivity of acid fast bacilli, minimal lesion in radiologic examination without any sign of complications. The sera were tested by IgG and IgM ELISA using *M. tuberculosis* antigen 85B. 65 kD antigen of *M. tuberculosis* was used as a control antigen.

By using IgG anti 85B antigen ELISA, sensitivity and specificity of this test were 60 % and 83,3% respectively. The titer of IgG anti 85B antigen was found significant different between tuberculosis patient compared to healthy control and to leprosy patient, however no significant different was found between those of tuberculosis patient from other lung disease. The result of IgM anti 85B antigen assay showed an extremely low sensitivity ( 0 % ), and there was no significant difference between each group. Although the result showed that specific IgG against tuberculosis 85B antigen can be detected in tuberculosis patients, however as the low sensitivity and specificity of the test, this antigen can not be recommended for diagnostic test for tuberculosis.

**Keywords:** *Tuberculosis – diagnostic – ELISA – specific IgG – 85B antigen*

## I PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh kuman *M. tuberculosis* dan terkadang oleh *M. bovis* dan *M. africanum*. Penyakit ini bersifat kronis progresif. Diagnosis penyakit ini sukar ditegakkan, karena gambaran klinisnya tidak khas, serta belum adanya alat bantu untuk penunjang diagnosis yang cepat dan spesifik.

Pencarian kasus yang diikuti dengan pengobatan yang adekuat merupakan kunci utama keberhasilan Program Nasional Pemberantasan Penyakit Tuberkulosis di Indonesia, oleh karena itu diperlukan sarana diagnostik yang handal, praktis dan tidak mahal. Diagnosis penyakit ini sukar ditegakkan, karena gambaran klinisnya tidak khas, serta belum adanya sarana diagnostik yang cepat dan spesifik. Diagnosis TB ditegakkan dengan biakan *M. tuberculosis*, tetapi sayang biakan ini memerlukan waktu yang lama, sedangkan dengan sputum BTA sensitivitasnya hanya sekitar 22 - 43 % (Sada *et al.*, 1990), sehingga dikembangkanlah berbagai uji serologi. Salah satu uji serologi yang banyak digunakan adalah metode ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*). Metode ini telah dikembangkan dengan menggunakan berbagai macam antigen yang mempunyai sensitivitas dan spesifisitas yang berbeda (Chiang *et al.*, 1997).

Teknik ELISA dengan mendeteksi IgG dapat digunakan untuk membantu diagnosis TB secara cepat (Zeiss *et al.*, 1984). Dalam penelitian tersebut antigen yang digunakan adalah purified protein derivative (PPD), yang berupa *crude antigen* dan banyak mengandung komponen yang tidak spesifik.

*M. tuberculosis* mengandung berbagai macam protein yaitu protein yang berada dalam sitoplasma, protein membran sel atau yang berkaitan dengan dinding sel, serta protein yang disekresikan kedalam medium disekelilingnya (Andersen & Brennan, 1994). Protein 85B merupakan protein antigen yang disekresikan oleh *M. tuberculosis*. Protein ini sangat poten dalam merangsang respon imun selular pada mencit yang diinfeksi dengan *M. tuberculosis*. Pada hewan coba perlindungan spesifik terhadap tuberkulosis hanya didapatkan dengan pemberian vaksin BCG hidup. Setelah pemberian vaksin hidup, sintesis protein oleh bakteri

masih berlangsung dan protein secara terus-menerus disekresikan ke sekitarnya. Limfosit T yang ditujukan terhadap protein ini mungkin berperan dalam pengenalan dini terhadap makrofag yang terinfeksi, sehingga terjadi pengontrolan infeksi yang efisien pada tahap yang sangat dini. Pada penelitian ini akan dilakukan deteksi IgG dan IgM dengan menggunakan antigen 85B dari *M. tuberculosis* yang merupakan bagian dari protein penting yang disekresikan oleh *M. tuberculosis*.

Protein 85B merupakan protein yang disekresikan oleh *M. tuberculosis*. Protein ini secara terus-menerus disekresikan kesekitarnya oleh *M. tuberculosis*, yang akan merangsang terbentuknya respon imun spesifik. Keberadaan protein ini diharapkan dapat dideteksi secara dini pada serum penderita tuberkulosis, yakni dengan cara melihat adanya IgG dan IgM spesifik terhadap antigen 85 B ini.

Masalahnya : apakah IgM dan IgG spesifik terhadap antigen 85B ini dapat dideteksi pada penderita penyakit tuberkulosis.

Penelitian ini diharapkan bermanfaat untuk membantu keberhasilan Program Nasional Pemberantasan Penyakit Tuberculosis di Indonesia, karena pencarian kasus yang diikuti dengan pengobatan yang adekuat adalah kunci utama keberhasilan program ini, oleh sebab itu diperlukan sarana diagnostik yang cepat dan tepat. Apabila dari penelitian ini didapatkan hasil yang baik, maka penelitian ini diharapkan dapat dikembangkan pada tahap berikutnya untuk membuat kit sehingga dapat membantu para klinisi untuk mengakkan diagnosis TB secara dini.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah IgG dan IgM spesifik terhadap antigen 85 B dapat dideteksi pada serum penderita tuberkulosis, sehingga antigen ini dapat digunakan sebagai alat bantu diagnostik pada penderita tuberkulosis secara dini.

## II METODE PENELITIAN

### Subyek penelitian

Sebagai subyek penelitian adalah : 30 penderita TB paru, diagnosis TB berdasarkan atas gambaran klinis, pemeriksaan BTA (+), adanya lesi minimal pada pemeriksaan radiologis dan belum adanya komplikasi penyakit. 30 penderita penyakit paru lain non TB (diagnosa berdasarkan atas anamnesa adanya keluhan infeksi saluran nafas, pemeriksaan BTA (-), dari pemeriksaan radiologis tidak terdiagnosa sebagai kasus TB). 60 penderita lepra (30 TT dan 30 LL). 30 individu yang dinyatakan sehat secara klinis. Serum diambil pada semua subyek untuk pemeriksaan ELISA.

### Alat / bahan yang diperlukan / antigen

Alat / bahan yang diperlukan : Coating buffer yang terdiri dari  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dan  $\text{NaHCO}_3$ , plasma subyek penelitian, kontrol : BSA, Histidin kontrol, Immunoplate, PBS, Tween 20, Normal Goat Serum, Conjugate, TMB,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , antigen 85B rekombinan dari *M. tuberculosis*. Antigen 85B (Dept of Immunohematology and Blood Bank Leiden Univ Medical Centre The Netherlands). Antigen ini dalam bentuk freeze-dried.

### Pengambilan sampel penelitian

Serum diperoleh dengan cara mengambil darah vena dengan menggunakan jarum venoject dan vacutainer. Darah tersebut dipisahkan dengan cara sentrifugasi. Plasma / serum yang diperoleh akan digunakan untuk tes ELISA IgG dan IgM.

### ELISA

*Checker-board* dilakukan untuk menentukan perbandingan pengenceran antigen, serum sampel, konjugat, dan waktu inkubasi pada pengujian serum sampel. Caranya : sumuran *polystyrene microplate* (*polysorb, Nunc*) diisi dengan

50  $\mu$ l antigen *M. tuberculosis* dengan beberapa macam pengenceran yang berbeda dalam coating buffer dan diinkubasi semalam dalam waterbath 37° C. Plate dicuci empat kali dengan PBST ( 50 mM PBS pH 7,2 dan 0,1% Tween 20), kemudian sumuran diblok dengan 100  $\mu$ l blocking solution, PBS + 1% (w/v) BSA, diinkubasi dalam waterbath selama 1 jam. Plate dikosongkan, lalu diletakkan dalam posisi terbalik. Masukkan serum / plasma yang dilarutkan dalam PBS Tween + 10% NGS dengan pengenceran yang berbeda kedalam plate sebanyak 50  $\mu$ l, kemudian diinkubasi dalam waterbath selama 1 jam. Plate dicuci empat kali dengan PBST. Peroxidase-conjugated anti-human IgG ditambahkan kedalam plate sebanyak 50  $\mu$ l (pengenceran 1: 2000 dan 1: 1000 dalam PBST), diinkubasi dalam waterbath selama 1 jam, ( Untuk IgM digunakan anti IgM ). Plate dicuci empat kali dengan PBST. Substrat TMB ditambahkan kedalam sumuran, dan diinkubasi dalam ruangan gelap sampai terdapat warna biru (5-10-15- menit). Reaksi dihentikan dengan penambahan 50  $\mu$ l 0,1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Pembacaan dilakukan dengan ELISA reader pada panjang gelombang 450 nm.

Deteksi IgG dan IgM dengan menggunakan ELISA

Hasil optimasi kadar antigen, histidin control, serum, konjugat, serta waktu inkubasi digunakan untuk memeriksa serum sampel penelitian. Caranya sama dengan ELISA diatas.

### III HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

##### 1. Optimasi ELISA

Hasil optimasi ELISA adalah sebagai berikut : suspensi antigen 1  $\mu$ g/ml, histidin control 1  $\mu$ g/ml pengenceran serum sampel 1:200, pengenceran konjugat 1:2000, serta lamanya inkubasi 15 menit.

## 2. Pemeriksaan serum

Hasil pemeriksaan 150 serum sampel penelitian dengan ELISA menggunakan antigen 85B untuk mendeteksi IgG dan IgM dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata titer IgG dan IgM anti 85B *M. tuberculosis*

Jenis Sampel	N	IgG *		IgM **	
		Rerata OD	SD	Rerata OD	SD
TB paru	30	0,211	0,093	0,029	0,032
Kontrol sehat	30	0,070	0,072	0,045	0,041
Penyakit paru lain	30	0,178	0,144	0,041	0,035
Lepra LL	30	0,135	0,165	0,056	0,041
Lepra TT	30	0,116	0,133	0,044	0,039
Total	150	0,142	0,134	0,043	0,038

\* uji ANOVA F = 5,667 p = 0,000

\*\* uji ANOVA F = 1,848 p = 0,123

Pada uji ANOVA untuk IgG 85B didapatkan  $p < 0,05$ , berarti IgG anti 85B dapat membedakan antara masing-masing kelompok penelitian secara keseluruhan. Sedangkan untuk IgM 85B didapatkan  $p > 0,05$ , berarti IgM anti 85B tidak dapat membedakan antara masing-masing kelompok penelitian.

Tabel 2. Hasil uji *multiple Comparisons* IgG anti 85B *M. tuberculosis* pada TB paru dengan kelompok yang lain (sehat, penyakit paru lain, lepra tipe LL dan lepra tipe TT).

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std Error	Sig
TB paru	Sehat	0,141	0,033	0,000
	Penyakit paru lain	0,033	0,033	0,309
	LL	0,076	0,033	0,020
	TT	0,095	0,033	0,004

Perbedaan mean signifikan pada nilai 0,05

Dari Tabel diatas didapatkan hasil angka rerata antara kelompok TB paru dengan kelompok sehat, TT dan LL berbeda nyata pada uji ANOVA  $p < 0,05$ , tetapi angka rerata antara kelompok TB dengan kelompok penyakit paru lain tidak berbeda nyata pada uji ANOVA  $p > 0,05$ . Hal ini menunjukkan bahwa IgG anti 85B *M. tuberculosis* dapat membedakan antara TB paru dengan kontrol sehat, lepra tipe LL dan TT, tetapi IgG anti 85B ini tidak dapat membedakan antara TB paru dengan penyakit paru lain.

Tabel 3. Hasil uji *multiple Comparisons* IgM anti 85B *M. tuberculosis* pada TB paru dengan kelompok yang lain (sehat, penyakit paru lain, lepra tipe LL dan lepra tipe TT).

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std Error	Sig
TB paru	Sehat	-0,015	0,009	0,117
	Penyakit paru lain	-0,011	0,009	0,260
	LL	-0,026	0,009	0,008
	TT	-0,015	0,009	0,130

Perbedaan mean signifikan pada nilai 0,05

Dari Tabel diatas didapatkan hasil angka rerata antara kelompok TB paru dengan kelompok sehat, penyakit paru lain, dan lepra tipe TT tidak berbeda nyata pada uji ANOVA  $p > 0,05$ , tetapi angka rerata antara kelompok TB dengan kelompok penyakit lepra tipe LL berbeda nyata pada uji ANOVA  $p < 0,05$ . Hal ini menunjukkan bahwa IgM anti 85 B *M. tuberculosis* tidak dapat membedakan antara TB paru dengan kontrol sehat, penyakit paru lain, dan lepra tipe TT, tetapi IgM anti 85B ini dapat membedakan antara TB paru dengan lepra tipe LL.

### 3. Penentuan kriteria positif ELISA

Dilakukan pemeriksaan IgG dan IgM dengan menggunakan antigen 85B D terhadap 30 sampel penelitian kontrol sehat. Hasil dianggap positif bila OD lebih besar atau sama dengan rerata OD kontrol sehat + 2 SD. Hasil pemeriksaan IgG dan IgM terhadap antigen 85B pada kontrol sehat dapat dilihat pada Tabel 4.



Dari Tabel 4. dapat dilihat bahwa nilai positif pemeriksaan ELISA IgG dengan menggunakan antigen 85B adalah bilamana OD lebih besar atau sama dengan 0,214, sedangkan untuk IgM 85B, adalah 0,127.

Tabel 4. Kadar IgG dan IgM ( rerata OD dan 2 SD ) terhadap antigen 85B *M. tuberculosis* pada kontrol sehat

	<u>Rerata OD</u>	<u>SD</u>	<u>Cut of point</u> <u>( rerata OD + 2 SD )</u>
Ig G 85 B	0,070	0,072	0,214
Ig M 85 B	0,045	0,041	0,127

Pada Tabel 5 dapat dilihat bahwa antigen 85B mempunyai sensitivitas yang berbeda dalam mendeteksi IgG dan IgM pada penderita tuberculosis.

Tabel 5. Seropositifitas dan sensitivitas IgG terhadap antigen 85B

	Positif	Negatif	Sensitivitas (%)
Ig G 85B	18	12	60
IgM 85B	0	30	0

Pada Tabel diatas dapat dilihat hasil ELISA IgG dan IgM anti 85B *M. tuberculosis* sampel TB paru secara umum menunjukkan bahwa pemeriksaan IgG lebih baik hasilnya dari pada pemeriksaan IgM. Nilai sensitivitasnya adalah 60 %, sedangkan untuk pemeriksaan IgM karena titer IgM anti 85B sangat rendah, selanjutnya tidak dianalisis.

#### 4. Perbandingan spesifisitas pemeriksaan serologis

Tingkat spesivisitas deteksi IgG dengan menggunakan Antigen 85B dapat dibandingkan antara sampel TB paru dengan kontrol sehat, sampel penyakit paru

lain, lepra tipe TT serta lepra tipe LL. Ringkasan hasil perbandingan spesifisitas pemeriksaan serologis dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Ringkasan hasil perbandingan spesifisitas ELISA pemeriksaan IgG sampel penelitian dengan menggunakan antigen 85B *M. tuberculosis*.

Jenis Sampel	Spesifisitas (%)	Perkiraan positif (%)	Perkiraan negatif (%)
Kontrol sehat	83,3	78,3	67,6
Penyakit paru lain	66,7	64,3	62,5
Lepra TT	76,7	75,0	65,7
Lepra LL	70	66,7	63,6
Total	74,2	36,7	88,1

\* Jumlah serum yang diperiksa 30 sampel untuk setiap kelompok.

Pada Tabel 6 dapat dilihat hasil perbandingan spesifisitas masing - masing kelompok, yang mana antigen 85B ini tingkat spesifisitasnya lebih tinggi pada kelompok kontrol sehat yakni 83,3 %, sedangkan pada sampel penyakit paru lain tingkat spesifisitasnya cuma 66,7 %. Tingkat spesifisitas secara keseluruhan adalah 74,2 %.

## B. Pembahasan

Total subyek penelitian ini berjumlah 150 orang yang terdiri dari 30 penderita TB paru, 30 kontrol sehat, 30 penderita penyakit paru lain, 30 lepra tipe LL dan 30 lepra tipe TT. Dilakukan pemeriksaan IgG dan IgM dengan menggunakan antigen 85B terhadap semua sampel penelitian. Dari penelitian ini didapatkan hasil rerata IgG anti 85B *M. tuberculosis* antara kelompok TB paru dengan kelompok sehat, TT dan LL berbeda nyata pada uji ANOVA  $p < 0,05$ , tetapi angka rerata antara kelompok TB dengan kelompok penyakit paru lain tidak berbeda nyata pada uji ANOVA  $p > 0,05$ . Uji ANOVA menunjukkan

bahwa IgG Anti 85B dapat membedakan antara TB paru dengan kontrol sehat, lepra tipe LL dan TT, tetapi IgG anti 85B ini tidak dapat membedakan antara TB paru dengan penyakit paru lain. Hasil ini menunjukkan bahwa ada reaksi silang antara serum pasien TB paru dengan serum pasien penyakit paru lain, dan mungkin penderita penyakit paru lain itu sudah pernah terpapar dengan TB sebelumnya.

Hasil ELISA IgG sampel TB paru, nilai sensitivitas yakni 60 %. Prosentase ini jauh lebih tinggi dari hasil penelitian sebelumnya. Vikerfors *et al.* (1993) melaporkan 4% sensitivitas dari antigen 85B *M. bovis* BCG untuk tuberculosis. Perbedaan prosentase ini disebabkan karena pada penelitian ini antigen yang digunakan adalah antigen 85B *M. tuberculosis* yang lebih sensitif untuk penderita tuberculosis, bila dibandingkan dengan antigen 85B *M. bovis*.

Antigen 85B spesifisitasnya 83,3 %. Untuk mengetahui adanya reaksi silang, maka dilakukan uji spesifisitas pada kelompok penyakit paru lain non TB, lepra TT dan LL. Hasil uji spesifisitas (probabilitas hasil uji negatif pada orang-orang yang tidak mengidap penyakit) pada kelompok yang lain ternyata lebih rendah, yakni pada sampel penyakit paru lain spesifisitasnya hanya 66,7 %, lepra TT 76,7 % dan lepra LL 70 %. Uji spesifisitas secara keseluruhan adalah 74,2 %. Rendahnya uji spesifisitas pada kelompok yang lain ini menyatakan bahwa, adanya reaksi silang antara *M. tuberculosis* dengan mikroorganisme yang lain. Vikerfors *et al.* (1993) melaporkan Antigen 85B *M. bovis* lebih spesifik untuk pemeriksaan lepra yakni sebesar 96 %, sedangkan untuk pemeriksaan tuberculosis spesifisitasnya sangat rendah. Perbedaan ini disebabkan karena antigen 85B *M. bovis* lebih spesifik terhadap lepra sedangkan antigen 85B *M. tuberculosis* lebih spesifik terhadap tuberculosis.

Rendahnya spesifisitas antigen 85B ini mungkin disebabkan karena antigen 85 complex (Antigen 85A, 85B dan 85C) didapatkan pada beberapa species *Mycobacterial* secara luas, serta kemungkinan adanya reaksi interspecies (Andersen *et al.* 1986). Struktur gen pengkode protein ini memperlihatkan 75 - 85 % sama dengan *M. leprae* (Thole *et al.* 1992) dan *M. kansasii* (Matsuo *et*

al, 1990), Andersen dan Brennan (1994) melaporkan adanya reaksi silang antara pasien tuberkulosis dengan lepra.

Uji ANOVA hasil ELISA IgM anti 85B didapatkan  $p > 0,05$ , berarti IgM anti 85B tidak dapat membedakan antara masing-masing kelompok penelitian. Nilai sensitivitasnya adalah 0 %.

Rendahnya sensitivitas IgM ini mungkin disebabkan karena TB merupakan penyakit yang kronis. Sedangkan IgM meningkat pada respon imun primer beberapa hari setelah pemaparan, puncaknya pada hari ke 7. IgM mulai berkurang sebelum kadar IgG mencapai puncaknya yaitu 10-14 hari setelah pemaparan antigen. Kadar antibodi kemudian berkurang dan umumnya hanya sedikit yang dapat dideteksi setelah 4-5 minggu setelah pemaparan. Bila pemaparan antigen terjadi untuk kedua kalinya, maka terjadilah respon imun sekunder. IgM dan IgG meningkat cepat dengan *lag phase* yang pendek. Puncak kadar IgM pada respon sekunder ini pada umumnya tidak melebihi puncaknya pada respon primer, sebaliknya kadar IgG meningkat lebih tinggi dan berlangsung lebih lama.

#### IV KESIMPULAN DAN SARAN

##### I. Kesimpulan

- a. Deteksi IgG anti 85B untuk diagnosis TB mempunyai sensitivitas 60 %, spesifisitas 83,3 %. IgG ini dapat membedakan antara TB paru dengan kontrol sehat, lepra tipe LL dan TT, tetapi tidak dapat membedakan antara TB paru dengan penyakit paru lain non TB.
- b. IgM anti 85B mempunyai sensitivitas yang sangat rendah, yakni 0 %. IgM ini tidak dapat membedakan antara masing-masing kelompok penelitian.
- c. Antigen 85B tidak dapat digunakan sebagai alat bantu diagnostik pada penderita tuberkulosis.

## 2. Saran

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih besar dan definisi kasus lebih tajam, sehingga sensitivitas dan spesifisitas metode ini lebih akurat.
- b. Pada sampel penyakit paru lain perlu dilakukan PCR untuk mengetahui secara pasti bahwa pasien ini tidak terinfeksi TB. *Gold standart* untuk TB adalah kultur, tetapi kultur memerlukan waktu yang lama sehingga disarankan untuk melakukan PCR.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alifano, M. 1997. Evaluation of IgA mediated humoral immune response against mycobacterial antigen P-90. in *Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis. Chest.* 111: 601-605.
- Alifano, M., Pascalis, De.R., Sofia, M., Faraone, S., Pezzo, D.M., Covelli, I. 1998. Detection of IgG and IgA against the mycobacterial antigen A60 in patients with extrapulmonary tuberculosis. *Thorax.* 53: 377-380.
- Andersen, A.B., Yuan, Z.L., Haslov, K., *et al.*, 1986. Interspecies reactivity of five monoclonal antibodies to *Mycobacterium tuberculosis* as examined by immunoblotting and enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.* 23: 446- 451.
- Andersen, A.B., Brennan, P. 1994. Protein and Antigens of *Mycobacterium tuberculosis*. In: Bloom, B.R. (eds). *Tuberculosis Pathogenesis, Protection And Control.* Washington: American Society for Microbiology.
- Anonim. 1994. *Survey Kesehatan Rumah Tongga 1992.* Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim. 1996. *Pedoman Penyakit Tuberkulosis dan Penanggulangannya.* Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Bothamley, G.H. 1995. Serological diagnosis of tuberculosis. *ERS. Journals. Ltd. Suppl.* 20: 676s-688s.
- Barnes, P.F., Modlin, R.L. and Ellner, J.J. 1994. T- Cell responses and cytokines. In: Bloom, BR. (Eds) *Tuberculosis Pathogenesis, Protection and Control.* Washington: American Society for Microbiology.
- Chiang, J.H., Suo, J., Bai, K.J., Lin, T.P., Luh, K.T., Yu, C.J., Yang, P.C. 1997. Serodiagnosis of tuberculosis a study comparing three specific Mycobacterian antigen. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 156: 906-911.
- Daniel, M.T., Ma, Y., Wang, Y.M. 1986. Enzym Linked Immunosorbent Assay using *Mycobacterium tuberculosis* Antigen 5 for the Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis in China. *Am. rev. respir. dis.* 134:1273-1275.

- Dolin, J.P., Raviglione, M.C. and Kochi A. 1994. Global tuberculosis incidence and mortality during 1990-2000. *Bulletin of the World Health Organization*. 72 (2), 213-230.
- Handoyo, I. 1996. Perbandingan Nilai Diagnostik Uji DOT-EIA-TB dan Pathozyme-TB Complex pada Penyakit Tuberkulosis Paru. *Media IDI cabang Surabaya*. 21: 36-39
- Hisyam, B. 1997. Gejala klinis, diagnosis dan terapi tuberkulosis. *Naskah Lengkap Seminar Nasional Tuberkulosis dan Lepra*. Pusat Kedokteran Tropis Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 10 Maret 1997.
- Ilangumaran, S.N.P., Narayan, S., Ramu, G. 1994. Cellular and humoral immune responses to recombinant 65-kD antigen of *Mycobacterium leprae* in leprosy patients and healthy controls. *Clin Exp Immunol*, 96: 79-85.
- Kardjito, T.V.M. 1996. Host defense against tuberculosis. *Naskah Lengkap Seminar Nasional Tuberkulosis dan Lepra*. Pusat Kedokteran Tropis Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 10 Maret 1997.
- Kismardhani. 1999. *Deteksi antibodi terhadap antigen Lam, KP-90 dan Kompleks antigen 38 KDA pada anak dengan klinis primer kompleks tuberkulosis pasca vaksinasi BCG*. Tesis Program Studi Patologi Klinik. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.
- Kresno, S.B. 1996. *Imunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Jakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Manaf, A. 1997. Permasalahan pemberantasan tuberkulosis di Indonesia. *Naskah Lengkap Seminar Nasional Tuberkulosis dan Lepra*. Pusat Kedokteran Tropis Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 10 Maret 1997.
- Manaf, A. 1998. Program tuberkulosis paru. *Kumpulan Makalah Lengkap Simposium Respirologi Anak Masa Kini*. Bagian IKA FK-UNPAD / RSUP dr. Hasan Sadikin, Bandung 11-12 Desember 1998.
- Matsuo, K., Yamuguchi, A., Yamazaki, H., *et al.*, 1990. Cloning and expression of the gene for the cross-reactive antigen of *Mycobacterium kansasii*. *Infect. Immun.* 58: 550-556.
- Sada, E., Brennan, P.J., Herrera, T. and Torres, M. 1990. Evaluation of Lipoarabinomannan for the serological diagnosis of tuberculosis. *J. Clin. Microbiol.* 28: 2587-2590.
- Sada, E., Agulair, D., Torres, M. and Herrera, T. 1992. Detection of lipoarabinomannan as a diagnostic test for tuberculosis. *J. Clin. Microbiol.* 30 : 2415 - 2418.
- Seaton, A., Seaton, D., Leitch, A.G. 1989. Clinical Features of Tuberculosis. In: *Crofton and Douglas's Respiratory Diseases*. 4<sup>th</sup> ed. USA: Blackwell Scientific Publication.
- Smith, K.C., Starke, JR., Einsenach, K., Ong, LT., Denby, M. 1995. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in Clinical Specimens from Children Using a Polymerase Chain Reaction. *Pediatrics*. 97: 155-160.
- Sudarmono, P. 1993. Teknologi PCR dan Relevansi Biologi Molekuler dalam Diagnostik dan Terapi Penyakit Paru. *Konas VI PDPI* Surakarta.

- Sudarmono, P., Lina, M., Ibrahim, F., Soebandrio, A. 1999. Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* 3 H 7Rv dengan reaksi berantai polimerase (PCR). *Majalah Kedokteran Indonesia*. 49(7) : 250-255.
- Surjanto, E., Sutanto, Y.S. 1997. Diagnostik tuberkulosis paru. *Naskah lengkap Perhimpunan Dokter Paru Indonesia pada Pertemuan Ilmiah Nasional Tuberkulosis*. Perhimpunan Dokter Paru Indonesia, Palembang 3-5 Oktober 1997.
- Raviglione, M.C., O'Brien, M.J. 1998. Tuberculosis in : Fauci, A.S., et al. (Eds) *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 14<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill Inc.
- Rosmayudi, HO., 1998. Pemeriksaan penunjang pada TB anak. *Kumpulan Makalah Lengkap Simposium Respirologi Anak Masa Kini*. Bagian IKA FK-UNPAD / RSUP dr. Hasan Sadikin, Bandung 11-12 Desember 1998.
- Thole, J.E.R., Schonigh, R., Janson, A.A.M., et al. 1992. Molecular and immunological analysis of a fibronectin-binding protein antigen secreted by *Mycobacterium leprae*. *Mol. Microbiol.* 6: 153- 163.
- Young, D., Lathigra, R., Hendrix, R., et al., 1988. Stress protein are immune targets in leprosy and tuberculosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 85: 4267-4270.
- Vikerfors, T., Olcen, P., Wiker, H., Watson, J.D. 1993. Serological response in leprosy and tuberculosis patients to the 18 kDa antigen of *Mycobacterium leprae* and antigen 85B of *Mycobacterium bovis* BCG. *International Journal. Of Leprosy*. 61(4): 571-578.
- Viljanen, M.K., Eskola, J., Tala, E. 1982. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for antibodies to purified protein derivative of tuberculin (PPD). *Eur. J. Respir. Dis.* 63: 257-262.
- Zee, R.V.D., Tholes, J.E.R. 1996. The 65 kD antigen : molecular studies on a ubiquitous antigen. In: Fadden, J.M. (eds). *Molecular Biology of the Mycobacteria*. Surrey University Press.
- Zeiss, C.R., Kalish, S.B., Erlich, K.S. et al., 1984. IgG Antibody to Purified Protein Derivative by Enzyme- Linked Immunosorbent Assay in the Diagnostic of Pulmonary Tuberculosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 130: 845-848
- Zhou, AT., Ma, WL., Zhang, PY., and Cole, RA. 1996. Detection of Pulmonary and Ekstra Pulmonary Tuberculosis Patients with the 38- Kilo Dalton antigen from *Mycobacterium tuberculosis* in a Rapid Membrane Based Assay. *Clin. Diag. Lab. Immunol.* 33: 337-341.