

IDENTIFICATION OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* BY POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) TEST AND ITS RELATIONSHIP TO MGG STAINING OF PLEURAL FLUID IN PATIENTS WITH SUSPECTED TUBERCULOUS PLEURAL EFFUSION

Shelly Salmah¹, Ariani Said Culla²

¹ Department of Histology, Faculty of medicine, Hasanuddin University, Makassar

² Department of Clinical pathology, Faculty of medicine, Hasanuddin University, Makassar

Correspondence author:

Shelly Salmah

Department of Histology, Faculty of medicine, Hasanuddin University, Makassar

Email: shellysalmah22@gmail.com

Article Info:

Received: 4 September 2017

Revised: 25 November 2018

Accepted: 01 December 2018

Available online: 31 December 2018

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, PCR test, MGG staining, tuberculous pleural effusion.

DOI: 10.20956/nmsj.v3i2.5778

Abstract

Intorduction: Pleural effusion is a condition characterized by the accumulation of excessive pleural fluid in pleural cavity as a result of transudation and exudation. The most commonly reported cause of exudative pleural effusion is *Mycobaterium tuberculosis*. This study was aimed to identify *Mycobacterium tuberculosis* in pleural fluid through PCR test and to examine the relationship between PCR test and MGG staining of pleural fluid in patients with suspected tuberculous pleural effusion, which was performed in Clinical Pathological Laboratory Installation of dr. Wahidin Sudirohusodo hospital in Makassar and Faculty Research Unit Laboratory in Hasanuddin University.

Methods: This study was a cross sectional study. Subjects in this study consisted of 75 patients (41 male and 34 female) with average age of 40-49 years (30.7%).

Results: Pleural effusion patients with suspected tuberculosis who had a positive PCR result was 58.7%, negative PCR result was 41.3% and positive rivalta result in 82.7%, negative rivalta result in 17.3%. Statistical analysis using independent T-test indicated a non-significant relationship between PCR test and average MN and PMN cell percentage in MGG staining ($P > 0.05$).

Conclusion: This study concluded that in MGG staining, average MN cell percentage was higher in PCR TB (+) group compared to PCR (-) group, but the difference was not significant.

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit infeksi yang bersifat kronis dan menular yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* (M.Tb) dan dapat menyerang paru (TB Paru) dan organ tubuh lainnya (TB Ekstra Paru).¹

Indonesia adalah negara dengan prevalensi TB ke-3 tertinggi di dunia setelah China dan India. Berdasarkan survei kesehatan

rumah tangga 1985 dan survei kesehatan nasional 2001, TB menempati ranking nomor 3 sebagai penyebab kematian tertinggi di Indonesia. Efusi

pleura merupakan suatu keadaan dimana terjadi akumulasi cairan pleura berlebihan dalam rongga pleura sebagai akibat transudasi (perubahan tekanan hidrostatik dan onkotik) dan eksudasi (proses peradangan yang menyebabkan peningkatan permeabilitas kapiler pembuluh darah pleura). Penyebab efusi pleura eksudatif yang paling sering adalah kuman M.Tb. Efusi pleura TB terjadi lebih dari 30% penderita TB dan merupakan penyebab terbesar morbiditi akibat TB Ekstra Paru.²

Diagnosis Efusi pleura TB ditegakkan dengan ditemukannya kuman M.Tb dalam cairan pleura. Metode laboratorium yang dapat dipakai untuk mengidentifikasi M. Tb dalam cairan pleura antara lain tes analisis cairan pleura, pewarnaan Ziehl-Neelsen, dan kultur.

Keberhasilan identifikasi M.Tb dalam cairan pleura sangat tergantung pada jumlah kuman dalam cairan pleura. Deteksi M.Tb dalam cairan pleura melalui pewarnaan Ziehl-Neelsen memiliki sensitivitas rendah dan tidak dapat membedakan berbagai anggota genus *mycobacterium*. Disisi lain, kultur laboratorium M.Tb cukup sensitif, tapi membutuhkan waktu 3-8 minggu untuk tumbuh. Hal ini mengakibatkan penundaan diagnosis Efusi pleura TB yang mungkin menyebabkan penyebaran penyakit lebih lanjut. Kunci utama dalam penanganan kasus TB adalah menemukan kasus TB sedini mungkin, namun dengan teknik yang digunakan saat ini tampaknya masih kurang memadai dalam melakukan hal tersebut. Teknik amplifikasi asam nukleat seperti *Polymerase Chain Reaction* (PCR) memberikan harapan baru dalam identifikasi kasus TB. Teknik ini dapat membantu diagnosis TB hanya dalam hitungan jam dengan tingkat sensitivitas dan spesifitas yang tinggi. Metode pemeriksaan cairan pleura lainnya dengan pewarnaan *May Grunwald-Giemsa* (MGG) cukup menjanjikan dalam membantu diagnosis Efusi pleura TB melalui hitung jumlah dan jenis sel PMN maupun limfosit.

Analisis cairan pleura adalah pemeriksaan terhadap spesimen cairan yang terdapat dalam rongga pleura sebagai petunjuk penyebab penimbunan cairan, menunjang diagnosis, memantau perjalanan penyakit, efektifitas pengobatan dan komplikasi penyakit. Analisis cairan pleura meliputi tes makroskopik, kimia dan mikroskopik. Analisis cairan pleura cukup murah dan mudah dikerjakan, namun memiliki beberapa keterbatasan diantaranya hasil rivalta positif dapat disebabkan oleh sebab lain

selain infeksi tuberculosis misalnya haemoptu, pneumoni, tumor dan infark paru.³

Tes mikroskopik pada cairan pleura antara lain adalah untuk melihat morfologi dan hitung jenis sel, dimana pada pemeriksaan rutin biasanya hanya membedakan dua golongan jenis sel yaitu golongan yang berinti satu yang digolongkan dengan nama "limfosit" dan golongan sel polinuklear atau "segment". Pada hitung jenis leukosit, dengan pewarnaan *May Grunwald Giemsa* (MGG) , sel yang dapat dijumpai antara lain : neutrofil, eosinofil, limfosit, monosit, makrofag, sel plasma dan mesotel. Bila leukosit polimorfonuklear yang banyak dapat diduga adanya infeksi non tuberkulosis, sedang limfosit yang meningkat dapat ditemukan pada tuberkulosis dan infeksi kronik. Eosinofil dapat ditemukan pada penyakit alergi seperti asma dan penyakit parasit, pneumonia yang akan sembuh, pneumothorax, infark pulmonum dan limfoma. Leukosit muda dapat ditemukan pada leukemia, leukosit dan eritrosit muda dapat ditemukan pada hemopoesis ekstrameduler.^{3,4,5}

Identifikasi M.Tb dengan teknik PCR digunakan untuk menentukan *Deoxyribo Nukleat Acid* (DNA) M.Tb pada cairan pleura, dapat dilakukan dengan cepat dan tidak memerlukan kuman dalam jumlah banyak. Penelitian lain juga melaporkan pemeriksaan PCR efusi pleura TB memiliki sensitivitas 90% dan spesifisitas 100%.^{6,7}

Berdasarkan uraian diatas, peneliti tertarik untuk membuktikan kemampuan tes PCR dalam mengidentifikasi M.Tb di cairan pleura serta bagaimana hubungan tes PCR dengan hasil tes pewarnaan MGG cairan pleura pada penderita Efusi pleura.

METODE

Jenis dan Desain penelitian

Penelitian ini merupakan suatu penelitian analitik *cross sectional study*.

Populasi penelitian

Populasi penelitian ini adalah penderita dengan Efusi pleura yang dirawat di Instalasi Rawat Inap Interna RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar.

Sampel dan Cara Pemilihan Sampel

Sampel adalah semua populasi terjangkau yang memenuhi kriteria penelitian dan dipilih sesuai dengan urutan masuknya di rumah sakit.

HASIL

Sampel yang diperoleh sebanyak 75 sampel, yang terdiri dari 41 orang (54.7%) laki-laki dan 34 orang (45.3%) perempuan. Penelitian terdiri dari empat kelompok umur, yaitu

kelompok umur 20-39 tahun, kelompok umur 40-49 tahun,

kelompok umur 50-59 tahun dan kelompok umur ≥ 60 tahun. Kelompok umur terbanyak pada penelitian ini adalah kelompok umur 40-49 tahun (30.7%). Karakteristik umum variabel penelitian dapat dilihat pada tabel 1

Tabel 1. Karakteristik Umum Subyek Penelitian

Variabel	Jumlah	Persentase (%)
<u>Umur (tahun)</u>		
20-39	19	25.3
40-49	23	30.7
50-59	14	18.7
≥ 60	19	25.3
<u>Jenis Kelamin</u>		
Laki-laki	41	54.7
Perempuan	34	45.3

Tes PCR yang dilakukan pada 75 sampel penelitian, hasil diperoleh 44 sampel (58.7%) positif dan 31 sampel (41.3%) negatif. Hasil Tes Rivalta positif sebanyak 62 dan tes Rivalta negatif sebanyak 13 dari keseluruhan sampel penelitian. Hasil tes PCR dan Rivalta dapat dilihat pada Tabel 2 dan 3

Tabel 2. Hasil Tes PCR pada Penderita dengan Efusi Pleura

Tes	Jumlah	Persentase (%)
PCR positif	44	58,7
PCR negatif	31	41,3

Sumber : Data Primer

Tabel 3. Hasil Tes Rivalta Berdasarkan Hasil Tes PCR

Tes	PCR Positif n (%)	PCR Negatif n(%)	Jumlah n(%)
Rivalta Positif	35 (46.7)	27 (36)	62 (82,7)
Rivalta Negatif	9 (12.)	4 (5.3)	13 (17,3)
	44 (58.7)	31 (41.3)	75 (100)

Sumber : Data Primer Keterangan : n = jumlah sampel

Pada pewarnaan MGG cairan pleura pada penelitian ini hanya dapat membedakan dua golongan jenis sel yaitu golongan yang berinti satu (MN) dan golongan sel polinuklear (PMN). Rerata persentase sel MN pada pasien efusi pleura

dengan PCR (+) adalah 66,64, sedangkan pada pasien dengan PCR (-) adalah 55,65 dengan $p = 0,261$. Pada PCR (+), rerata PMN adalah 15,61 dan pada PCR (-) 21,77 dengan $p = 0,116$., seperti yang terlihat pada tabel 4.

Tabel 4. Analisis Tes PCR dengan Pewarnaan MGG

Variabel		N	Mean	Std. Deviation	p*
MN	PCR positif (+)	44	66,64	36,46	0,261
	PCR positif (-)	31	55,65	38,23	
PMN	PCR positif (+)	44	15,61	20,11	0,116
	PCR positif (-)	31	21,77	25,90	

* menggunakan independent t-test

PEMBAHASAN

Efusi pleura merupakan suatu keadaan dimana terjadi akumulasi cairan pleura yang abnormal dalam rongga pleura akibat transudasi atau eksudasi yang berlebihan. Pleural TB (efusi pleura TB) terjadi pada 30% penderita TB paru dan merupakan penyebab terbesar morbiditi akibat TB ekstra paru. Penderita dengan efusi pleura pada penelitian ini, banyak ditemui pada kelompok umur 40-49 tahun (30.7%), serta lebih banyak terjadi pada laki-laki (54.7%) dibandingkan perempuan (45.3%). Tingginya insiden efusi pleura, khususnya efusi pleura eksudat sebagian besar disebabkan oleh infeksi TB dan keganasan khususnya tumor paru.

Identifikasi M.Tb dalam cairan pleura dibuat berdasarkan identifikasi keberadaan basil tuberkuli di dalam sputum, cairan pleura, spesimen biopsi pleura, atau dengan kehadiran granuloma pada pemeriksaan histopatologi. Namun demikian terdapat beberapa kesulitan dalam identifikasi M.Tb dalam cairan pleura, mulai dari pengumpulan spesimen, metode deteksi dengan sensitivitas yang rendah serta waktu yang lama menunggu hasil kultur. Identifikasi M. Tb di cairan pleura dengan teknik PCR dapat dilakukan dengan cepat dan tidak memerlukan kuman dalam jumlah banyak. Sebanyak 58.7% sampel pada penelitian ini yang menunjukkan hasil tes PCR positif TB dan 41.3% sampel yang menunjukkan hasil tes PCR negatif TB. Hasil tes PCR positif TB pada penelitian ini, telah menunjukkan bahwa identifikasi M.Tb di

cairan pleura dapat dilakukan dengan tes PCR, selain tes BTA dan kultur cairan pleura, khususnya pada penderita efusi pleura yang tidak disertai gejala infeksi TB dan penderita efusi pleura akibat keganasan.

Tes PCR memiliki kelebihan antara lain : (1) mempunyai daya lacak (detektibilitas tinggi) yang tinggi. Secara teoritis jika ada satu basil *Mycobacterium tuberculosis* di dalam spesimen yang diperiksa sudah dapat memberikan hasil positif; (2) waktu pemeriksaan PCR yang relatif singkat; (3) nilai diagnostiknya tergolong tinggi terutama bila spesimen berasal dari rongga tubuh tertutup, misalnya cairan otak, cairan pleura dan cairan peritoneum; (4) dapat dipakai menentukan resistensi obat. Kelemahan tes PCR antara lain : (1) tidak dapat membedakan kuman hidup atau mati sehingga tidak dapat dipakai untuk memantau pengobatan TB; (2) keandalan tes PCR tergantung dari target DNA atau primer yang dipakai dan hal ini tergantung dari stabilitas genetiknya; (3) kurang praktis karena membutuhkan sarana dan reagen khusus. (SPM, 2004)

Tes Rivalta merupakan pemeriksaan konvensional yang masih sering dilakukan hingga saat ini untuk membedakan efusi pleura transudat (tes Rivalta negatif) dan eksudat (tes Rivalta positif). Interpretasi dari tes Rivalta dilakukan dengan menilai ada tidaknya kekeruhan setelah cairan efusi pleura ditetaskan pada cairan aquades yang mengandung asam asetat glasial. (Gandasoebrata, 2008). Hasil tes Rivalta yang positif pada penelitian ini sebanyak 62 sampel,

sedangkan tes Rivalta yang negatif sejumlah 13 sampel. Tes Rivalta yang positif ditemukan pada 46,7% tes PCR positif dan 36% tes PCR negatif. Hasil penelitian ini menunjukkan kelemahan tes Rivalta dalam membedakan cairan eksudat yang disebabkan oleh infeksi TB dan non TB. Hal ini sesuai dengan kepustakaan bahwa tes rivalta positif dapat disebabkan oleh karena proses inflamasi dan perubahan permeabilitas membran pada permukaan pleura, yang antara lain dapat disebabkan oleh infeksi TB paru dan proses keganasan paru. (Hardjoeno H, Fitriani M., 2007)

Pada pewarnaan MGG cairan pleura pada penelitian ini hanya dapat membedakan dua golongan jenis sel yaitu golongan yang berinti satu (MN) dan golongan sel polinuklear (PMN). MN (Mononuklear sel) terdiri dari limfosit dan monosit. Sedangkan Polimorfonuklear (PMN) terdiri dari Netrofil, eosinofil dan basofil. Bila leukosit PMN yang banyak dapat diduga adanya infeksi akut, bakteri ataupun virus, dan reaksi alergi, sedangkan limfosit yang meningkat dapat ditemukan pada infeksi kronik bakteri ataupun virus

Hasil analisis statistik dengan menggunakan *t-test independent*, rerata sel MN pada pasien efusi pleura, lebih tinggi pada pasien dengan PCR positif (66,64), dibandingkan pada pasien dengan PCR negatif (55,65) meskipun secara statistik perbedaan ini tidak bermakna ($p=0,261$). Pada PCR positif, rerata PMN lebih rendah (15,61) dibandingkan rerata PMN pada pasien efusi pleura dengan PCR negatif (21,77) meskipun secara statistik perbedaan ini juga tidak bermakna ($p=0,116$). Hal ini dimungkinkan karena pada penelitian ini tidak dibedakan antara kasus yang akut ataupun yang kronik. Kepustakaan menyebutkan bahwa pada hitung jenis leukosit, dengan pewarnaan May Grunwald Giemsa (MGG), sel yang dapat dijumpai antara lain: neutrofil, eosinofil, limfosit, monosit, makrofag, sel plasma dan mesotel. Bila leukosit polimorfonuklear yang banyak dapat diduga adanya infeksi akut, sedang limfosit yang meningkat dapat ditemukan pada infeksi kronik.

Eosinofil dapat ditemukan pada penyakit alergi seperti asthma.

KESIMPULAN

Penderita efusi pleura suspek TB yang diidentifikasi dengan hasil PCR (+) 58,7% dan hasil PCR (-) 41,3% dan hasil rivalta (+) 82,7% dan rivalta (-) 17,3. Pada pewarnaan MGG, rerata persentase sel MN lebih tinggi pada kelompok PCR TB (+) daripada PCR (-), namun tidak terdapat perbedaan yang bermakna

DAFTAR PUSTAKA

1. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Pedoman Nasional Penanggulangan Tuberkulosis. Edisi 2. 2006: 1-131.
2. Chang FY. Clinical Utility of Polymerase Chain Reaction for Diagnosis of Smear-negative Pleural Tuberculosis. J Chin Med Assoc. 2007.
3. Halim H. Penyakit-penyakit Pleura. Dalam: Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Edisi IV, jilid II. Pusat Penerbit Ilmu Penyakit Dalam FKUI. Jakarta. 2010: 2329-38.
4. Hardjoeno H, Fitriani M. Tes dan Interpretasi Cairan Pleura. Dalam: Substansi dan Cairan Tubuh. Makassar: Lembaga Penerbitan Universitas Hasanuddin. 2007: 67-83.
5. Wirawan R. Pemeriksaan dan Pelaporan Cairan Pleura dan Ascites. Departemen Patologi Klinik FKUI-RSCM. Dibawakan pada 9th Quality Seminar and Workshop In Laboratory Medicine. Jakarta. 2011.
6. Gandasoebrata R. Transudat dan Eksudat. Dalam: Penuntun Laboratorium Klinik Jakarta. Penerbit Dian Rakyat. 2001: 145-153.
7. Sacher DA, McPherson RA. Penilaian Laboratorium Cairan Tubuh. Dalam: Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium. Edisi 11. Jakarta: EGC. 2002: 638-9.