

**DIAGNOSIS KRIPTOKOKOSIS MENINGEAL
PADA PENDERITA AIDS DENGAN DETEKSI ANTIGEN
Glucuronoxylomanan PADA CAIRAN OTAK**

TESIS

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
MAGISTER ILMU BIOMEDIK (M. Biomedik)**

**ROBIATUL ADAWIYAH
NPM: 0606000213**



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
KEKHUSUSAN PARASITOLOGI
JAKARTA
DESEMBER 2008**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

**Tesis ini adalah hasil karya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.**

Nama : Robiatul Adawiyah

NPM : 0606000213

Tanda Tangan : 60



Tanggal : 9 Desember 2008

HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh

Nama : Robiatul Adawiyah
NPM : 0606000213
Program Studi : Ilmu Biomedik Kekhususan Parasitologi
Judul Tesis : Diagnosis Kriptokokosis Meningeal pada Penderita AIDS dengan Deteksi Antigen *Glucuronoxylomanan* pada Cairan Otak.

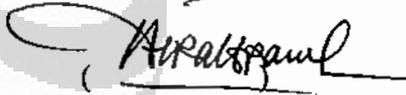
Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Biomedik pada Program Studi Ilmu Biomedik Kekhususan Parasitologi Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia

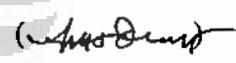
DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Prof. Dr. dr. Retno Wahyuningsih, MS., SpParK ()

Pembimbing II : Dra. Ridhawati Sjam, MS., DAP&E ()

Penguji I : dr. Agnes Kurniawan, Ph.D., Sp.ParK ()

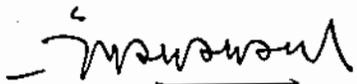
Penguji II : dr. Fera Ibrahim, MSc., Ph.D., Sp.MK ()

Penguji III : Prof. dr. Mohamad Sadikin, DSc ()

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 9 Desember 2008

Mengetahui
Ketua Program Studi Ilmu Biomedik



(Dr. rer. physiol. dr. Septelia Inawati Wanandi)

Kata Pengantar

Alhamdulillah, dengan segala kerendahan hati penulis panjatkan segala puja dan syukur ke hadirat Allah SWT atas kasih dan sayangNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul **“Diagnosis Kriptokokosis Meningeal pada Penderita AIDS dengan Deteksi Antigen *Glucuronoxylomanan* pada Cairan Otak”** sebagai syarat menyelesaikan Program Magister Ilmu Biomedik Kekhususan Parasitologi.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terimakasih kepada segenap pihak yang telah membimbing, mendukung dan membantu baik secara langsung maupun tidak langsung dalam penelitian tesis dan penyusunan laporannya. Dengan segala hormat dan kerendahan hati, penulis menyampaikan penghargaan dan ucapan terimakasih dengan tulus kepada:

1. Dr. dr. Ratna Sitompul, SpM (K) sebagai Dekan FKUI dan Prof. dr. Menaldi Rasmin, Sp.P (K), FCCP sebagai Dekan FKUI terdahulu, yang memberi kesempatan penulis menuntut ilmu di FKUI.
2. Dr. rer. Physiol. dr. Septelia Inawati W. sebagai Ketua Program studi Magister Ilmu Biomedik, yang telah banyak memberikan pengarahan selama penulis menjalankan pendidikan.
3. Prof. dr. Saleha Sungkar, MS, DAP&E, Sp.ParK sebagai Kepala Departemen Parasitologi FKUI, yang telah memberikan dukungan selama masa studi
4. Dra. Hendry Astuti, MS, sebagai ketua kekhususan Parasitologi atas nasehat dan motivasi selama masa pendidikan.
5. Prof. Dr. dr. Retno Wahyuningsih, MS, SpParK sebagai pembimbing I tesis dan Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan, motivasi, nasehat dan pengertiannya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tesis ini dengan baik.

6. Dra. Ridhawati Sjam, MS, DAP&E sebagai pembimbing II tesis yang dengan kelembutan dan kesabaran telah memberikan bimbingan, motivasi serta dukungan dalam penyelesaian tesis ini.
7. Seluruh dosen serta karyawan Program Magister Ilmu Biomedik dan Departemen Parasitologi FKUI atas segala bantuan selama proses pendidikan.
8. dr. Joedo Prihartono, MPH dan DR. Drs. Heri Wibowo, MS atas bimbingannya dibidang metodologi penelitian dan statistik, serta dr. Darma Imran Sp.S atas bantuan dan kerjasamanya dalam proses penelitian ini.
9. Suamiku tercinta, mas Isti atas segala kesabaran, pengertian, keikhlasan, doa dan dukungannya baik moril maupun materil sehingga bunda dapat menyelesaikan studi dengan baik. Buat kedua mutiara hati bunda Thariq dan Bari, semoga studi bunda bermanfaat bagi kalian.
10. Ayah dan ibu, atas dukungan, pengertian, doa dan keikhlasannya sehingga ananda dapat menyelesaikan studi dengan baik.
11. Adikku, dr. Sulisnainy dan suami, atas dukungan dan doanya.
12. Teman-teman seperjuangan di kekhususan Parasitologi: Esy, Erwin, Dina, Jano, Freggy dan Vita, serta teman-teman Program Magister Ilmu Biomedik: Dwi, Cici dan Ika atas dorongan semangat dan kerjasamanya selama masa pendidikan.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu saran dan masukan sangat diharapkan. Semoga tesis ini dapat bermanfaat dan dapat memberikan sumbangan bagi ilmu pengetahuan. Amin.

Jakarta, 19 Desember 2008

Penulis

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Robiatul Adawiyah
NPM : 0606000213
Program Studi : Pasca Sarjana Ilmu Biomedik
Departemen : Parasitologi
Fakultas : Kedokteran
Jenis Karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Diagnosis Kriptokokosis Meningeal pada Penderita AIDS dengan Deteksi Antigen *Glucuronoxylomanan* pada Cairan Otak.

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya tanpa meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta

Pada tanggal : 9 Desember 2008

Yang Menyatakan



(Robiatul Adawiyah)

ABSTRAK

Nama : Robiatul Adawiyah
Program Studi : Ilmu Biomedik Kekhususan Parasitologi
Judul : Diagnosis Kriptokokosis Meningeal pada Penderita AIDS dengan Deteksi Antigen *Glucuronoxylomanan* pada Cairan Otak.

Kriptokokosis adalah infeksi yang disebabkan oleh jamur *Cryptococcus* sp. terutama *Cryptococcus neoformans*. Sebelum pandemi AIDS kriptokokosis hanya berupa kasus sporadis, namun meningkat tajam setelah era AIDS, dengan manifestasi klinis terbanyak meningitis. Pemeriksaan mikologi untuk diagnosis kriptokokosis memiliki keterbatasan sensitivitas dan waktu, sehingga diperlukan metode lain untuk diagnosis dini agar pengobatan dapat segera diberikan. Salah satu alternatif pemeriksaan adalah deteksi antigen GXM, yang belum diketahui nilai batasnya. Berdasarkan itu perlu dilakukan penelitian untuk menetapkan nilai batas (*cut off point*) GXM pada pasien AIDS dengan kriptokokosis meningeal. Hasil penelitian diharapkan dapat membantu menegakkan diagnosis kriptokokosis pada pasien AIDS dengan gangguan SSP. Untuk deteksi GXM digunakan teknik aglutinasi lateks, dengan memeriksa cairan otak yang tidak diencerkan, diencerkan 100 \times , 300 \times , dan 500 \times . Baku emas penelitian ini adalah pemeriksaan tinta India dan kultur. Hasil penelitian menunjukkan bahwa laki-laki lebih banyak daripada perempuan dan dari perhitungan Rasio Prevalens, diketahui laki-laki lebih berisiko mendapat kriptokokosis (RP: 1,1). Usia terbanyak terdapat pada rentang 25-30 tahun. Berdasarkan perhitungan *Mc Nemar*, nilai *kappa*, sensitivitas, spesifisitas, Nilai Prediksi Positif dan Nilai Prediksi Negatif disimpulkan bahwa pengenceran 300 \times merupakan nilai batas uji deteksi GXM untuk menegakkan diagnosis kriptokokosis.

Kata kunci: *Cryptococcus neoformans*, meningitis, diagnosis

ABSTRACT

Name : Robiatul Adawiyah
Study Program : Biomedic Science (Major Parasitology)
Title : Diagnosis of Meningeal Cryptococcosis in AIDS Patient by
Detection of *Glucuronoxylomanan* Antigen in Spinal Fluid.

Cryptococcosis is an infection caused by encapsulated yeast *Cryptococcus neoformans*. Before AIDS pandemy it was rarely reported, but nowadays its prevalence increasing sharply. The most common clinical manifestation in AIDS is meningitis. Mycology investigation for the diagnosis of cryptococcosis is obscure by the limitation of sensitivity and time consuming. It is necessary to use another method as the alternative. GXM antigen is distributed in body fluids such as spinal fluid, serum and urine. The detection of GXM in those body fluids can be used to support the diagnosis of cryptococcosis. The dilution that can be used for the diagnosis of cryptococcal meningitis in Jakarta is not yet known. The method used for GXM detection is latex agglutination test. For the purpose of this study neat, 100, 300 and 500 dilution of spinal fluid were tested. The gold standard of this study is mycology test i.e. india ink examination and culture. The result of Prevalens Ratio (PR) showed male are more prone to infection (RP: 1,1), while the range of the age is 25-30 years old. Based on Mc Nemar test, kappa value, sensitivity, specificity, negative predictive value and positive predictive value it can be concluded that 300 dilution of spinal fluid is cut off value for the diagnosis of cryptococcal meningitis in AIDS.

Key words: *Cryptococcus neoformans*, meningitis, diagnosis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI ILMIAH	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	4
1.4 Manfaat	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 <i>Cryptococcus neoformans</i>	5
2.1.1 Biologi <i>Cr. neoformans</i>	5
2.1.2 Ekologi <i>Cr. neoformans</i>	6
2.1.3 Antigen <i>Glucuronoxylomannan (GXM)</i>	9
2.2 Kriptokokosis.....	10
2.2.1 Patogenesis.....	10
2.2.2 Manifestasi Klinis	12
2.2.2.1 Kriptokokosis SSP	12
2.2.2.2 Kriptokokosis Kulit	13
2.3 Diagnosis Kriptokokosis.....	14
2.3.1 Pemeriksaan Mikologi	15
2.3.1.1 Pemeriksaan langsung dengan tinta india.....	15
2.3.1.2 Pemeriksaan Kultur.....	15
2.3.2 Pemeriksaan Histopatologi.....	17
2.3.3 Uji Serologi.....	17
2.3.3.1 Deteksi Antigen.....	17
2.3.3.2 Deteksi Antibodi.....	20
2.3.4 Teknik Biologi Molekular.....	20
3. METODE PENELITIAN	21
3.1 Desain Penelitian	21
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	21
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	21
3.2.1. Populasi.....	21

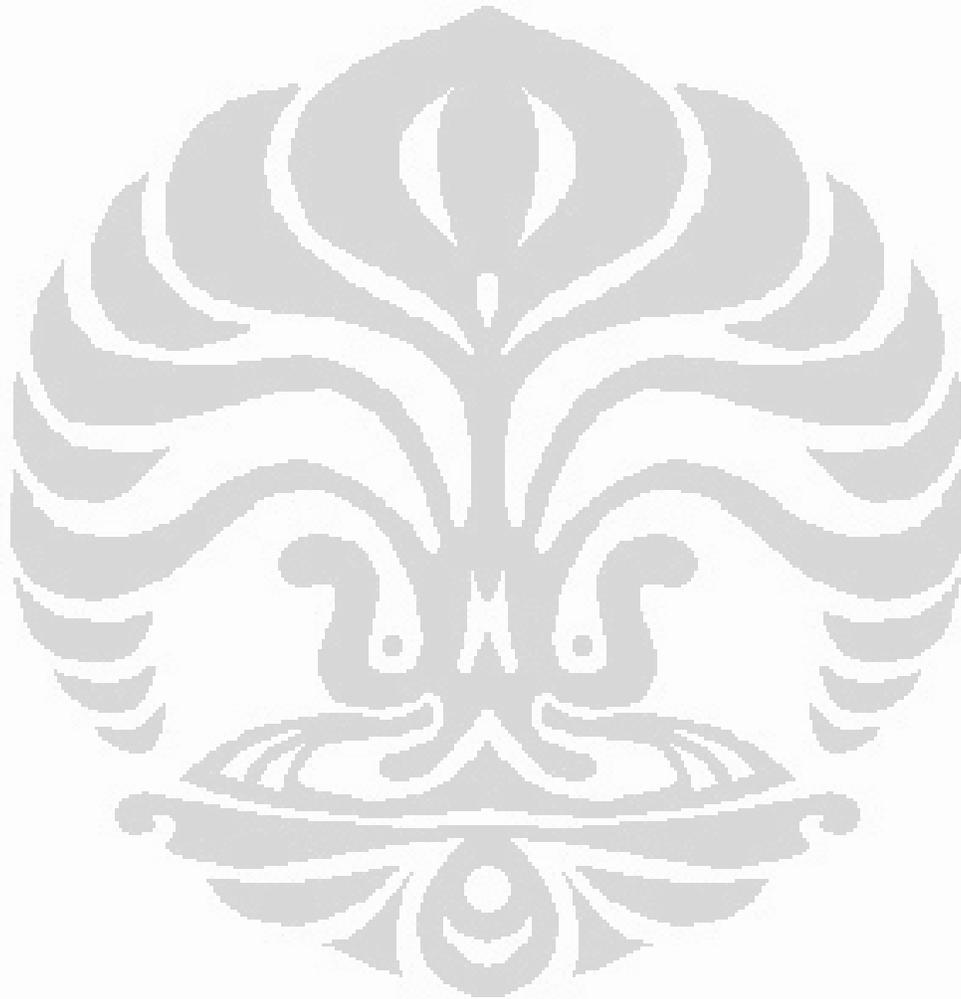
3.2.2. Sampel.....	21
3.4 Besar Sampel	21
3.5 Pengumpulan Sampel	22
3.6 Pemeriksaan Cairan Otak.....	22
3.6.1 Pemeriksaan Mikologi.....	22
3.6.1.1 Alat dan Bahan Penelitian.....	23
3.6.1.2 Cara Kerja.....	23
3.6.2 Pemeriksaan deteksi antigen GXM.....	24
3.6.2.1 Alat dan Bahan Penelitian.....	24
3.6.2.2 Cara Kerja.....	25
3.7 Analisis Data.....	25
3.8 Alur Penelitian	26
4. HASIL PENELITIAN	27
4.1 Karakteristik Subyek.....	27
4.2 Pemeriksaan Mikologi.....	27
4.3 Pemeriksaan Serologi.....	30
5. PEMBAHASAN	37
6. KESIMPULAN DAN SARAN	41
6.1 Kesimpulan	41
6.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	47
<i>ETHICAL CLEARANCE</i>	
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	
DRAFT ARTIKEL.....	

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Perbedaan <i>Cr. neoformans</i> dan <i>Cr. gattii</i>	8
Tabel 4.1	Sebaran Karakteristik Demografik.....	27
Tabel 4.2	Sebaran Hasil Pemeriksaan Mikologi pada Sampel Cairan Otak Penderita AIDS (n = 104).....	28
Tabel 4.3	Hubungan Faktor Penentu dan Hasil Pemeriksaan Mikologi	30
Tabel 4.4	Hubungan Faktor Penentu dan Hasil Pemeriksaan Mikologi	31
Tabel 4.5	Hasil Pemeriksaan Deteksi Antigen GXM pada Kelompok Mikologi Negatif.....	32
Tabel 4.6	Hubungan Deteksi GXM Tanpa Pengenceran dan Pemeriksaan Mikologi.....	32
Tabel 4.7	Hubungan Deteksi GXM Pengenceran 100× dan Pemeriksaan Mikologi.....	33
Tabel 4.8	Hubungan Deteksi GXM Pengenceran 300× dan Pemeriksaan Mikologi.....	33
Tabel 4.9	Hubungan Deteksi GXM Pengenceran 500× dan Pemeriksaan Mikologi.....	34
Tabel 4.10	Sensitifitas, Spesifisitas, Nilai Prediksi Positif dan Nilai Prediksi Negatif Deteksi Antigen GXM pada Cairan Otak.....	35

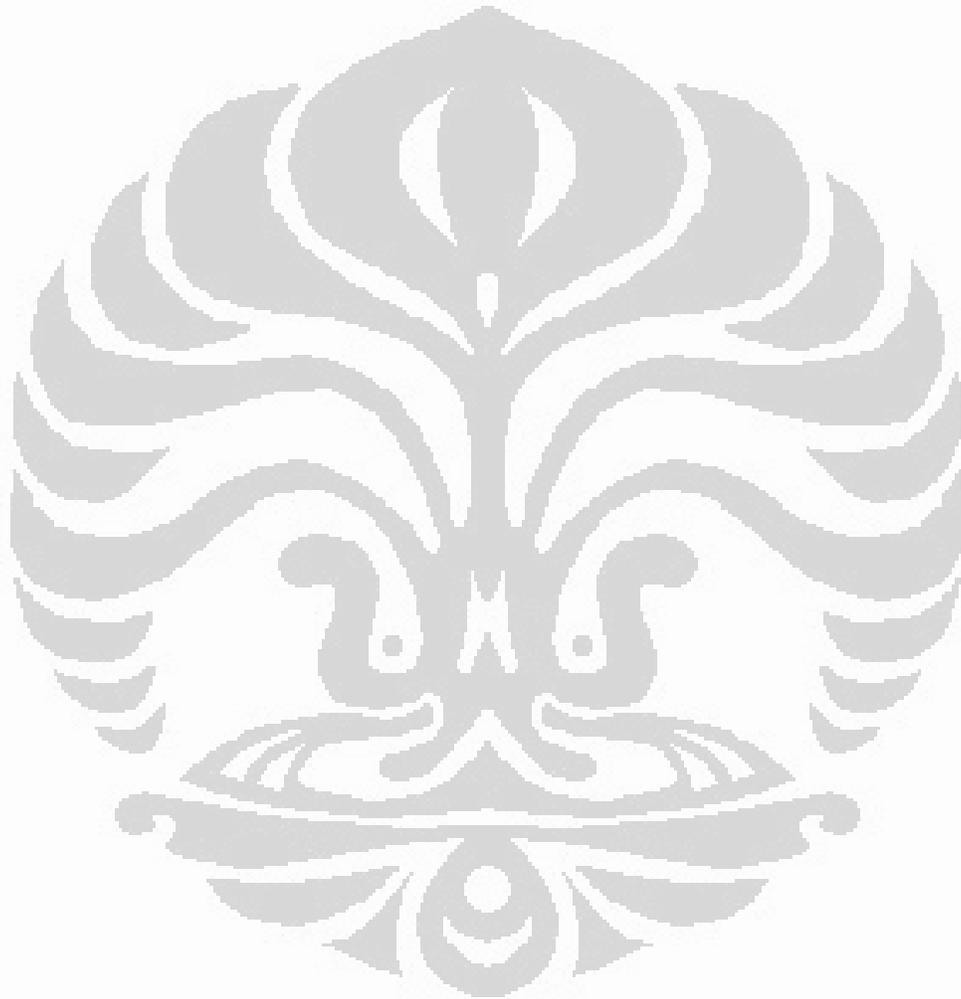
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Sel ragi <i>Cr. neoformans</i> dengan Berbagai Organelnya.....	5
Gambar 2.2	Lingkungan dengan Banyak Merpati dapat merupakan Habitat yang Cocok untuk <i>Cr. neoformans</i>	7
Gambar 2.3	Pohon <i>Eucalyptus camaldulensis</i> dengan Lapukan pada Kulit Kayunya merupakan Habitat yang Cocok untuk <i>Cr. gattii</i>	7
Gambar 2.4	Proses Rehidrasi <i>Cr. neoformans</i>	11
Gambar 2.5	Kriptokokosis kulit. Tampak kelainan berupa ulkus yang meluas dengan batas eritematosa dan infiltrat iregular.....	14
Gambar 2.6	Kriptokokosis Kulit. Tampak Kelainan Berupa Vesikel.....	14
Gambar 2.7	Kelompok Sel <i>Cr. neoformans</i> dengan Pewarnaan Tinta India dari Spesimen Cairan Otak pada Penderita AIDS.....	15
Gambar 2.8	<i>Cr. neoformans</i> pada Media SDA. Usia kultur tiga hari. Koloni berwarna krem-kuning dengan permukaan mukoid.	16
Gambar 2.9	Koloni <i>Cr. neoformans</i> pada Media NSA: tampak koloni berwarna coklat tengguli.....	16
Gambar 2.10	Gambaran <i>Cr. neoformans</i> pada Sediaan Histopatologi dengan Pewarnaan Mucicarmin. Sel ragi berwarna merah..	17
Gambar 2.11	Hasil Uji Aglutinasi Lateks.....	19
Gambar 4.1	Hasil Pemeriksaan Langsung Cairan Otak dengan Tinta India; <i>Cr. neoformans</i> tampak sebagai sel ragi berkapsul tebal pada latar belakang hitam.....	29
Gambar 4.2.A	Koloni <i>Cr. neoformans</i> pada Media ASD. Koloni ragi berwarna putih dengan permukaan licin.....	29
Gambar 4.2.B	Koloni <i>Cr. neoformans</i> pada Media ABS. Jamur tumbuh sebagai koloni ragi berwarna coklat gelap.....	29
Gambar 4.3	Deteksi Antigen GXM pada Cairan Otak: reaksi positif antigen GXM <i>Cr. neoformans</i> dengan teknik aglutinasi lateks. Tampak aglutinasi dengan gumpalan kasar.....	30



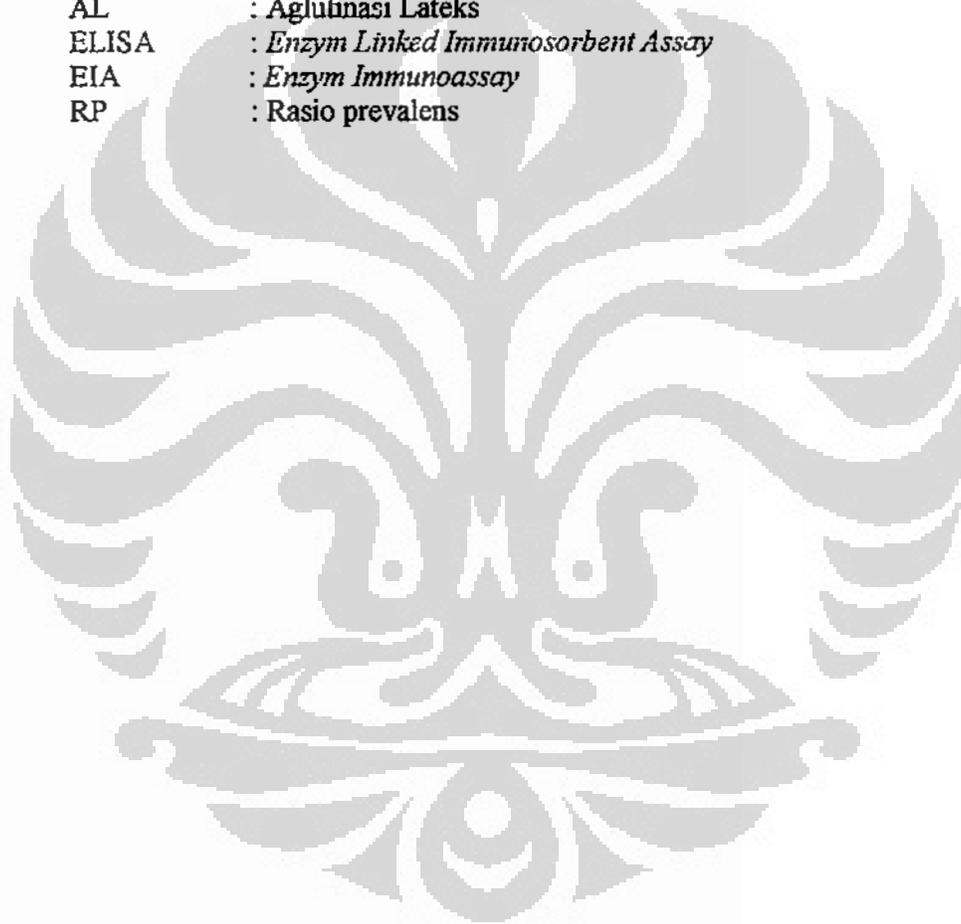
DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Kit PASTOREX™ <i>CRYPTO PLUS</i> 61747 (kat. 7EM2093, Bio-Rad Perancis).....	46
Lampiran 2	Penghitungan statistik.....	47



DAFTAR SINGKATAN

AIDS	: <i>Acquired immune deficiency syndrome</i>
HIV	: <i>human immunodeficiency virus</i>
ASD	: agar sabourraud dekstrosa
GXM	: <i>glucuronoxylomannan</i>
GalXM	: <i>galactoxylomannan</i>
MP	: <i>mannoprotein</i>
SSP	: Susunan Saraf Pusat
KGB	: Kelenjar Getah Bening
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
AL	: Aglutinasi Lateks
ELISA	: <i>Enzym Linked Immunosorbent Assay</i>
EIA	: <i>Enzym Immunoassay</i>
RP	: Rasio prevalens



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Acquired immune deficiency syndrome (AIDS) merupakan kumpulan gejala akibat kerusakan sistem imun yang disebabkan infeksi *human immunodeficiency virus* (HIV).^{1,2} Pada dua dekade terakhir di seluruh dunia termasuk Indonesia insidens pasien terinfeksi HIV meningkat cepat.³ HIV menginfeksi sistem imun terutama sel dengan epitop CD4 seperti limfosit T.¹ Jumlah CD4⁺ akan menurun selama masa klinis laten. Penurunan kadar CD4⁺ hingga dibawah 200 sel/ μ l akan meningkatkan risiko timbulnya infeksi oportunistik.^{2,4} Infeksi jamur merupakan infeksi oportunistik yang sering ditemukan pada penderita HIV, bahkan dapat menjadi penanda AIDS, stadium akhir infeksi HIV.⁵ Salah satu infeksi oportunistik yang sering ditemukan pada AIDS adalah kriptokokosis.

Kriptokokosis umumnya disebabkan oleh *Cryptococcus neoformans* dan dalam jumlah sedikit oleh *Cryptococcus gattii*. *Cr. neoformans* lebih banyak ditemukan pada penderita AIDS dan *Cr. gattii* cenderung menginfeksi penderita imunokompeten.⁵

Kriptokokosis terjadi secara inhalasi ke paru dan selanjutnya berdiseminasi ke berbagai organ tubuh termasuk selaput otak.^{4,7} Manifestasi klinis terbanyak pada pasien AIDS adalah meningitis. Prevalensi kriptokokosis meningeal pada penderita AIDS di berbagai negara berkisar antara 2,09% hingga 72%,⁸⁻¹⁴ dan di Indonesia (Jakarta) tahun 2007 sebesar 21,9%.¹⁵ Kriptokokosis meningeal merupakan penyebab kecacatan tertinggi pada penderita AIDS yang mengalami gangguan susunan saraf pusat (SSP).¹⁶ Keterlambatan pengobatan akan mengakibatkan kecacatan dan kematian. Mortalitas akibat kriptokokosis meningeal pada pasien AIDS cukup tinggi, yaitu 13-44%.¹⁷ Berdasarkan hal itu diagnosis dini kriptokokosis meningeal harus secepatnya ditegakkan sehingga pengobatan dapat segera diberikan agar kecacatan dapat dicegah dan angka kematian diturunkan.

Diagnosis pasti kriptokokosis meningeal ditegakkan dengan melakukan pemeriksaan mikologi terhadap cairan otak, yaitu pemeriksaan langsung dengan tinta india dan kultur. Pemeriksaan langsung menguntungkan karena mudah, murah dan hasilnya cepat (kurang lebih 30 menit). Kelemahannya, hasil positif hanya didapat jika jumlah sel jamur dalam cairan otak lebih dari 10^3 - 10^4 sel/ml,⁴ sehingga sensitifitas pemeriksaan tersebut hanya 50%.¹⁸ Kultur bahan klinik lebih sensitif dibanding pemeriksaan tinta india dengan sensitifitas 70%.¹⁸ Kelemahan kultur, membutuhkan waktu yang lama untuk pertumbuhan jamur. Dibutuhkan waktu 5-7 hari untuk mengetahui pertumbuhan pada media sabouraud. Koloni yang tumbuh menyerupai koloni *Candida* dan diperlukan pemeriksaan mikroskopis atau biokimiawi untuk memastikan.⁴ Sementara itu pasien kriptokokosis meningeal adalah penderita dengan kondisi klinis buruk yang memerlukan pengobatan segera.

Diagnosis kriptokokosis lainnya adalah dengan deteksi antigen *glucuronoxylomannan* (GXM). GXM adalah polisakarida dan komponen utama kapsul jamur. GXM merupakan faktor virulensi penting yang dilepaskan oleh *Cr. neoformans* dan dapat dideteksi di berbagai cairan tubuh seperti cairan otak, darah, serum dan urin.^{4,8} Dalam kondisi saprofit *Cr. neoformans* juga dapat melepaskan antigen GXM. Hal itu dibuktikan dengan penelitian pendahuluan untuk deteksi GXM pada serum 10 orang sehat.

Keberadaan jamur dalam tubuh dipengaruhi oleh pajanan jamur dari lingkungan sebagai sumber infeksi. Ketersediaan jamur di alam berbeda pada tiap wilayah geografis sehingga keberadaan GXM dalam tubuh berbeda pula.^{19,20} Penelitian deteksi antigen GXM di Jakarta pada 49 sampel cairan otak pasien terinfeksi HIV yang diduga kriptokokosis meningeal, ternyata dari 30 sampel yang memberikan hasil positif GXM hanya sembilan yang terbukti secara mikologi, yaitu ditemukan *Cryptococcus* pada pemeriksaan tinta india dan biakan, 21 sampel (43%) memberikan hasil negatif pada pemeriksaan mikologi. 19(39%) sampel lainnya memberikan hasil negatif baik pada pemeriksaan mikologi maupun serologi.¹⁷ Pada kelompok dengan hasil serologi positif dan mikologi negatif diagnosis kriptokokosis tidak mudah ditegakkan, karena pada orang sehatpun antigen GXM dapat dideteksi.

Dua orang sehat dengan hasil serologi positif GXM pada penelitian pendahuluan ternyata tetap positif pada pengenceran 100 kali. Pada orang sehat rupanya juga terjadi pajanan oleh *Cr. neoformans* yang berasal dari lingkungan. Di Jakarta dan sekitarnya telah terbukti terdapat sumber penularan kriptokokosis.^{19,20} Dalam tubuh orang sehat jamur hidup sebagai saprofit namun tetap melepaskan GXM sehingga dapat terdeteksi pada uji serologi. Selain itu, pada kondisi tertentu misalnya infeksi subakut jamur kerap kali tidak dapat ditemukan sehingga deteksi antigen memiliki peran yang besar. Berdasarkan hal itu perlu diketahui nilai batas (*cut off point*) kadar GXM pada penderita AIDS untuk mendukung diagnosis kriptokokosis.

Deteksi GXM *Cr. neoformans* dapat dilakukan dengan metode aglutinasi lateks menggunakan antibodi monoklonal yang dilapiskan pada permukaan lateks. Metode tersebut dapat mendeteksi GXM hingga kadar 10 ng/ml.^{18,21} Kit untuk deteksi antigen GXM telah tersedia di pasaran namun belum diketahui nilai titrasi yang bersifat diagnostik pada penderita AIDS dengan kriptokokosis meningeal di Jakarta. Penetapan nilai batas kadar GXM diharapkan dapat membantu menegakkan diagnosis kriptokokosis meningeal pada penderita AIDS sehingga dapat segera ditetapkan kapan saat terapi dimulai.

1.2 Rumusan Masalah

Jumlah penderita HIV/AIDS di dunia semakin meningkat termasuk di Indonesia. Meningkatnya penderita AIDS meningkatkan insidens infeksi jamur oportunistik termasuk kriptokokosis. Pemeriksaan mikologi sebagai penunjang diagnostik kriptokokosis memiliki keterbatasan sensitifitas dan waktu. Oleh karena itu perlu dilakukan pemeriksaan serologi untuk alat penunjang diagnosis kriptokokosis yaitu dengan deteksi GXM. GXM merupakan komponen yang dapat dideteksi secara serologi. Kadar GXM dipengaruhi pajanan jamur di lingkungan dan faktor geografi. Di Jakarta jamur *Cryptococcus* ditemukan di lingkungan. Penelitian deteksi GXM pada orang sehat menemukan bahwa ada orang sehat mengandung GXM dalam darahnya. Berdasarkan hal itu perlu diketahui berapa pengenceran cairan otak pada pemeriksaan antigen GXM yang

memiliki sifat diagnostik sehingga dapat digunakan sebagai diagnosis pendukung kriptokokosis meningeal pada pasien AIDS ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum:

Menetapkan titer GXM dalam cairan otak yang dapat membantu menegakkan diagnosis kriptokokosis pada pasien AIDS dengan gangguan SSP.

1.3.2 Tujuan khusus:

1. Menetapkan rasio prevalens pada kelompok yang diperiksa
2. Deteksi GXM pada kelompok mikologi positif dan mikologi negatif dengan beberapa pengenceran
3. Menetapkan pengenceran cairan otak yang bermakna diagnostik dengan merujuk hasil pemeriksaan mikologi

1.4 Manfaat Penelitian

Penetapan titer antigen GXM pada cairan otak dengan aglutinasi lateks dapat membantu menegakkan diagnosis dini kriptokokosis meningeal pada penderita AIDS sehingga terapi dapat dimulai secepat mungkin. Diagnosis dini akan mencegah kecacatan dan kematian.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Cryptococcus neoformans*

2.1.1. Biologi *Cr. neoformans*

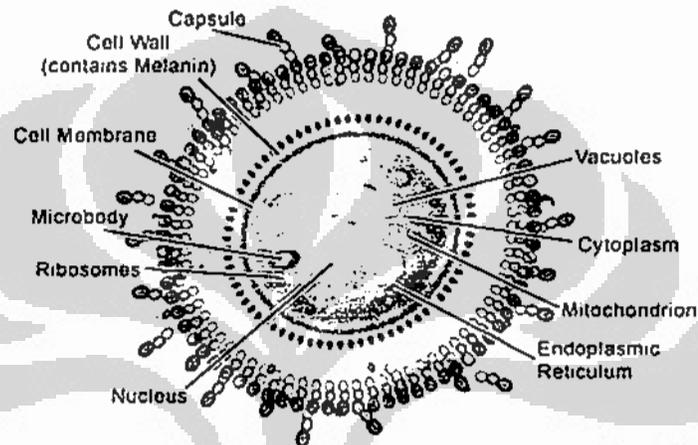
Cr. neoformans pertama kali diisolasi dari jus buah peach tahun 1894 oleh Francisco Sanefelis. Isolasi dari tanah pertama kali dilakukan pada tahun 1951 oleh Emmons dan dari kotoran merpati tahun 1955 oleh peneliti yang sama.²¹

Cr. neoformans semula terdiri atas *Cr. neoformans* var. *neoformans* dan *Cr. neoformans* var. *gattii*. Saat ini keduanya menjadi dua spesies yang berbeda yaitu *Cr. neoformans* dan *Cr. gattii*.^{22,23} *Cr. neoformans* terbagi lagi menjadi dua varietas yaitu *Cr. neoformans* var. *neoformans* dan *Cr. neoformans* var. *grubii*.^{4,24}

Cr. neoformans merupakan jamur uniselular yang dapat bereproduksi secara aseksual dan seksual. Bentuk aseksual merupakan sel ragi yang berkembang biak dengan membentuk tunas, dan merupakan bentuk yang paling banyak ditemukan. Bentuk seksual atau *perfect state* (teleomorf) ditandai dengan terbentuknya basidiospora oleh hifa khusus yang sampai saat ini hanya dapat diamati di laboratorium, dan perannya dalam patogenesis masih belum diketahui.⁴

Cr. neoformans merupakan sel eukariota yang memiliki satu inti dan satu anak inti (nukleolus) yang dikelilingi oleh membran rangkap. Selain inti didalam sitoplasma sel terdapat beberapa organel seperti mitokondria, vakuola, retikulum endoplasma, mikrobodi dan ribosom (Gambar 2.1)^{4,25} Sel ragi *Cr. neoformans* berbentuk bulat dan mempunyai simpai. Diameter sel ragi berkisar antara 4-6 μm dan dilingkupi oleh simpai polisakarida dengan lebar 1- >50 μm . Pada spesimen klinik diameter kapsul lebih lebar dan dapat mencapai 80 μm . Dengan mikroskop elektron kapsul tampak tersusun oleh jaringan fibriller dari mikrofibril dengan diameter 3-4 nm hingga 10-13 nm.⁴ Lebar kapsul bervariasi tergantung kondisi lingkungan dan organ yang terinfeksi.²⁶ Pada mamalia diketahui bahwa lebar kapsul berhubungan dengan pertahanan *Cryptococcus* terhadap fagositosis selama infeksi. Hal tersebut terbukti bahwa isolat klinis mempunyai kapsul lebih lebar dibandingkan yang berasal dari lingkungan atau yang telah dipelihara di

laboratorium. Lebar kapsul juga dipengaruhi oleh kadar CO₂, rendahnya kadar zat besi, dan faktor nutrisi. Dilaporkan bahwa ukuran kapsul akan melebar pada media dengan kadar glukosa rendah dan sebaliknya akan mengecil pada media yang kaya glukosa seperti agar sabouraud dekstrosa (Gambar 2.4). Diketahui paru dan otak merupakan perangsang aktif bagi pertumbuhan kapsul *Cryptococcus*.^{4,24,27}



Gambar 2.1. Sel ragi *Cr. neoformans* dengan Berbagai Organel²⁵

Pada bahan klinik *Cr. neoformans* hampir selalu ditemukan dalam bentuk khamir. Hifa atau pseudohifa hanya dibentuk oleh galur tertentu dan sangat jarang ditemukan pada jaringan.⁴

2.1.2. Ekologi *Cr. neoformans*

Cr. neoformans di alam bersifat saprofit dan pada mamalia bersifat oportunistik.^{4,17} Jamur tersebut ditemukan secara kosmopolit, habitatnya adalah pada kotoran burung terutama burung merpati (Gambar 2.2).⁴ Di Indonesia dilaporkan bahwa *Cr. neoformans* dapat diisolasi dari tinja burung merpati.¹⁹ Selain pada tinja burung merpati, jamur tersebut juga dapat ditemukan pada tanah dan beberapa jenis pohon, seperti yang ditemukan di Brazil yaitu *pink shower*, *november shower*. *Cr. gattii* ditemukan pada lapukan kayu beberapa pohon terutama Eukaliptus (*Eucalyptus camaldulensis*) (Gambar 2.3).^{4,24,28}



Gambar 2.2. Lingkungan dengan Banyak Merpati dapat merupakan Habitat yang Cocok untuk *Cr. neoformans*.²⁹



Gambar 2.3. Pohon *Eucalyptus camaldulensis*, dengan Lapukan pada Kulit Kayunya merupakan Habitat yang Cocok untuk *Cr. gattii*.²⁹

Beberapa faktor yang membantu pertumbuhan jamur tersebut di alam adalah pH (7,3-7,4), kelembaban tinggi, suhu (25-37°C), kurangnya sinar matahari, dan nitrogen tinggi yang terkandung pada kotoran burung. Kelembaban yang tinggi dapat meningkatkan daya tahan dan proliferasi *Cr. neoformans*.

Beberapa komponen dalam kotoran burung yang ikut berperan dalam pertumbuhan *Cr. neoformans* antara lain kreatinin sebagai sumber nitrogen bagi *Cr. neoformans* dan asam urat serta purin yang digunakan untuk asimilasi jamur. Diketahui pada satu gram kotoran merpati dapat mengandung lebih dari 10^6 sel *Cr. neoformans*.^{21,24}

Penyebab utama kriptokokosis pada manusia ada dua spesies yaitu *Cr. neoformans* dan *Cr. gattii*, namun pernah dilaporkan isolasi *Cr. laurentii*, *Cr. albidus* dan *Cr. Curvatus* dari bahan klinik, meskipun perannya dalam menyebabkan infeksi masih belum jelas.⁴ Selain habitat terdapat beberapa perbedaan antara *Cr. neoformans* dan *Cr. gattii* (Tabel 2.1).

Tabel 2.1. Perbedaan *Cr. neoformans* dan *Cr. gattii*.^{4,22}

Karakteristik	<i>Cr. neoformans</i>	<i>Cr. gattii</i>
Distribusi geografis	kosmopolit	Tropis dan subtropis
Sumber di alam	tanah yang mengandung kotoran burung merpati	pohon Eukaliptus
Serotipe	A, D dan AD	B dan C
Stadium seksual	<i>Filobasidiella neoformans</i>	<i>Filobasidiella bacillispora</i>
Basidiospora	Silindris, dinding kasar	Basiler, dinding halus
Kultur pada agar CGB	Tidak tumbuh	Tumbuh
Prevalensi pada AIDS	Sering	Jarang

Serotipe pada *Cryptococcus* dibedakan berdasarkan perbedaan antigenik pada simpainya. Saat ini diketahui ada lima serotipe *Cr. neoformans*, yaitu serotipe A, B, C, D dan AD. Serotipe A, D dan AD adalah *Cr. neoformans* dan serotipe B dan C adalah *Cr. gattii*.^{4,31} *Cr. neoformans* dibagi lagi menjadi dua varietas yang berbeda serotipe yaitu *Cr. neoformans* var. *grubii* (serotipe A) dan *Cr. neoformans* var. *neoformans* (serotipe D).²⁴

2.1.3. Antigen *Glucuronoxylomannan* (GXM) *Cr. neoformans*

Banyak faktor yang berperan pada virulensi *Cr. neoformans* antara lain kapsul polisakarida, kemampuan tumbuh pada suhu 37°C (termotoleran), *alpha mating type*, kemampuan membentuk melanin, produksi manitol, mampu terlarut dalam cairan ekstraselular, namun kapsul polisakarida merupakan faktor virulensi utama. Kapsul sebagai salah satu faktor virulensi penting dapat memfasilitasi pertahanan *Cr. neoformans* dalam proses infeksi dan dapat mempengaruhi respons pejamu terhadap infeksi *Cryptococcus*.⁴ Kapsul *Cr. neoformans* terdiri atas beberapa komponen yaitu polisakarida, enzim dan protein. Polisakarida merupakan komponen utama dengan komposisi sebesar 95%. Komponen polisakarida diantaranya *glucuronoxylomannan* (GXM), *galactoxylomannan* (GalXM) dan *mannoprotein* (MP). GXM merupakan komponen polisakarida yang terbanyak (90%) dan yang paling berperan dalam virulensi jamur. GXM juga bersifat diagnostik sehingga saat ini merupakan salah satu pemeriksaan penting untuk menegakkan diagnosis.^{8,16,17}

Simpai jamur bersama melanin melindungi jamur terhadap serangan sistim kekebalan tubuh. Bagian polisakarida simpai *Cr. neoformans* dapat memfasilitasi pertahanan jamur terhadap sistim kekebalan. Kapsul bersama melanin melindungi jamur dari fagositosis dan *oxidative injury* serta mengakibatkan deplesi komplemen. Selain itu migrasi leukosit juga terhambat, disregulasi sekresi sitokin, edema otak, presentasi antigen pada proses imunologi terganggu sehingga antibodi tidak mengenali jamur sebagai benda asing. Kapsul melindungi jamur dengan cara mempresentasikan permukaan kapsulnya sehingga tidak dapat dikenali oleh sel fagosit dan menghalangi struktur dinding sel jamur dikenali oleh reseptor sel pejamu. Hal itu telah dibuktikan secara *invitro*. Di alam, kapsul diduga dapat melindungi sel jamur dari penghancuran oleh amuba.⁴

Ada dua jenis polisakarida GXM, pertama yang terikat pada sel jamur dan kedua yang dilepaskan oleh sel jamur ke lingkungan eksternal (eksopolisakarida).⁴ Eksopolisakarida dapat dideteksi di berbagai cairan tubuh seperti cairan otak, darah, serum dan urin baik pada saat *Cr. neoformans* mengakibatkan infeksi maupun dalam kondisi saprofit.^{5,8} Polisakarida kapsul *Cr. neoformans* dilaporkan

memiliki kemiripan dengan polisakarida yang dibentuk oleh beberapa mikroba, yaitu *S. pneumoniae*, *Cryptococcus* spp., *Klebsiella* dan *Trichosporon beigelii*. Hal itu dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan GXM pada bahan klinik.⁴

2.2. Kriptokokosis

Kriptokokosis adalah infeksi yang disebabkan oleh jamur *Cryptococcus* sp., sebagian besar oleh *Cr. neoformans* dan dalam jumlah sedikit oleh *Cr. gattii*.^{5,6} Penyakit ini awalnya dikenal sebagai penyakit Busse-Buschke, setelah Busse dan Buschke berhasil mengisolasi jamur tersebut dari tibia seorang perempuan pada tahun 1894.³¹

Kriptokokosis umumnya terjadi pada pasien dengan gangguan sistem imun, namun beberapa kasus dilaporkan terjadi pada pasien tanpa gangguan imunitas.³² *Cr. neoformans* lebih banyak ditemukan pada penderita AIDS dan *Cr. gattii* cenderung menginfeksi penderita imunokompeten. Kriptokokosis pada pasien AIDS biasanya terjadi pada pasien dengan jumlah CD4 dibawah 50 sel/ μ l.^{5,6}

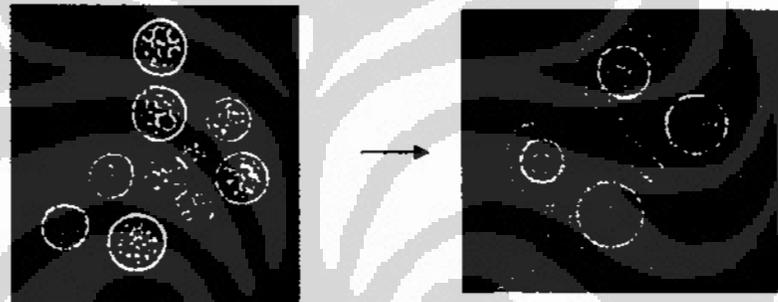
Kriptokokosis lebih banyak menyerang laki-laki daripada perempuan. Diduga hal itu terjadi karena laki-laki lebih terpajan jamur dari lingkungan karena pekerjaannya. Secara *invitro* dibuktikan bahwa hormon estrogen dapat menghambat pertumbuhan jamur.^{4,9,12,33}

2.2.1. Patogenesis

Port d'entrée jamur tersebut adalah saluran pernafasan. Cara infeksi *Cryptococcus* umumnya secara inhalasi dan sangat jarang melalui inokulasi primer pada kulit.^{4,8} Inhalasi spora diduga berasal dari bentuk seksual maupun bentuk aseksual. Spora yang dapat masuk ke alveoli adalah yang berukuran kurang dari 4 μ m. Bentuk vegetatif *Cr. neoformans* berukuran 2,5 μ m hingga 10 μ m sedangkan basidiospora yang merupakan bentuk seksual berukuran 1,8-3 μ m.³⁰ Setelah terinhalasi, spora akan ditangkap oleh makrofag dan bertahan intraselular. Spora yang relatif dehidrasi akan mengalami rehidrasi dan berakibat penebalan kapsul polisakarida seperti yang terlihat pada Gambar 2.4. Setelah

terinhalasi jamur berkolonisasi dan kemudian dapat menyebar secara hematogen dan diseminasi limfatik ke organ lain terutama otak.^{4,8,24,30} *Cryptococcus* dapat menyebar ke otak diduga karena kemampuannya mensintesis melanin dari *catecholamine* yang banyak terdapat pada jaringan otak.⁶

Di dalam paru, jamur menimbulkan kelainan paru primer pada kelenjar limfe yang seringkali tidak memberikan gejala klinis. Pada individu dengan imunitas terganggu misalnya AIDS dapat timbul gejala klinis paru yang nyata. Hal yang sama juga terjadi pada individu imunokompeten bila jamur terhirup dalam jumlah besar. Predileksi utama kriptokokosis stadium lanjut adalah susunan saraf pusat (SSP).⁴



Gambar 2.4. Proses Rehidrasi *Cr. neoformans*.³⁰

Imunitas selular dan humoral pejamu berperan penting pada infeksi kriptokokosis.³¹ Pertahanan tubuh yang pertama kali berperan dalam menghadapi *Cr. neoformans* adalah makrofag alveoli. Secara *invitro* makrofag dapat mengikat dan memfagositosis jamur. Neutrofil, sel NK dan limfosit T berperan membunuh dan menghambat pertumbuhan *Cr. neoformans*.⁸ Pada hewan coba, CD4 dan CD8 dilaporkan berperan penting dalam perlindungan tubuh terhadap *Cr. neoformans*, terutama pada infeksi paru dan otak. Penurunan atau ketiadaan CD4 dan CD8 mempermudah terjadinya diseminasi infeksi dan menurunkan kekebalan tubuh. Penurunan atau ketiadaan limfosit T yang berdampak pada penurunan atau ketiadaan CD4 dan CD8 seperti pada penderita AIDS mempermudah terjadinya infeksi *Cr. neoformans* atau penyebaran infeksi yang

telah ada terutama ke otak.⁴ Sitokin terutama interleukin-2 dan interferon- γ yang dilepaskan oleh limfosit (TH1) berperan penting dalam membunuh jamur. Pada penelitian *invitro monocyte-driven macrophage, natural killer cells* dan limfosit T dapat membunuh *Cryptococcus*. Peran imunitas humoral masih belum jelas namun beberapa penelitian menunjukkan antibodi berperan dalam menurunkan sirkulasi antigen *Cr. neoformans* dan berperan penting pada *lymphocyte-mediated immune response* terhadap jamur tersebut.^{8,31}

Pada pejamu dengan gangguan sistem imun, *Cr. neoformans* memproduksi asam sialat, kapsul polisakarida, melanin, manitol dan fosfolipase yang penting untuk menginvasi pejamu. Namun patogenitas jamur tersebut pada pasien tanpa gangguan sistem imun belum terungkap sepenuhnya.³⁴

2.2.2. Manifestasi Klinis

Hingga tahun 1980 kriptokokosis merupakan penyakit yang bersifat sporadis. Sebelum terjadinya pandemi AIDS, kriptokokosis banyak ditemukan pada pasien dengan penurunan imunitas seperti pasien leukemia, limfoma, sarkoidosis, sirosis, penggunaan kortikosteroid jangka panjang serta penderita dengan transplantasi organ. Prevalensi kriptokokosis pada pasien yang mendapatkan transplantasi organ sekitar 1-5%.³⁵ Setelah pandemi AIDS prevalensi kriptokokosis meningkat.³³

Kriptokokosis dilaporkan dapat menginfeksi berbagai organ yaitu SSP, kulit, paru, mata, saluran kemih, otot, jantung, saluran cerna, kelenjar getah bening (KGB), kelenjar tiroid, kelenjar adrenal dan leher. Predileksi jamur ini pada individu imunokompromis adalah SSP dalam hal ini selaput otak, meskipun beberapa laporan menyatakan tentang ditemukannya kelainan kulit.⁴

2.2.2.1. Kriptokokosis SSP

Manifestasi klinis kriptokokosis yang paling sering ditemukan pada penderita AIDS adalah kriptokokosis meningeal.^{4,5,8} Prevalensi kriptokokosis

meningeal pada penderita AIDS bervariasi, di India 2,09%,⁹ Eropa Barat 2-10%,¹³ di Italia 4,2%,³⁶ di Thailand 15% pada orang dewasa dan 2,97% pada anak-anak,^{10,11} di Afrika 15%,¹³ di Kamboja 18%,¹⁴ dan di Indonesia (Jakarta) 21,9%.¹⁵ Kriptokokosis meningeal merupakan penyebab kecacatan tertinggi pada penderita AIDS yang mengalami gangguan susunan saraf pusat.¹⁶ Sejak pemakaian terapi antiretroviral (HAART), insidens kriptokokosis meningeal pada penderita AIDS menurun.^{4,8,12} Mortalitas akibat kriptokokosis meningeal pada pasien AIDS cukup tinggi, berkisar antara 13-44% di sub Sahara Afrika.¹⁷

Gejala yang ditimbulkan oleh kelainan otak seringkali merupakan gejala yang mendorong penderita untuk berobat, yaitu sakit kepala yang semakin lama makin hebat dan makin sering timbul, kadang-kadang disertai vertigo, diplopia, strabismus, penurunan pendengaran, kejang dan muntah. Perubahan status mental dan somnolen dapat terjadi pada infeksi berat. Kelainan saraf otak terjadi pada 30% penderita. Kriptokokosis meningeal mengakibatkan peningkatan tekanan intrakranial, terutama pada penderita HIV/AIDS. Pada otak, jamur tersebut juga dapat menyebabkan kriptokokoma yang sering ditemukan pada orang imunokompeten.⁸ *Cryptococcus* ditemukan pada cairan otak penderita AIDS cukup tinggi, di Uganda 53,5% (46/86 dengan pemeriksaan langsung tinta india), di Argentina 72% (72/93 dengan pemeriksaan langsung tinta india) dan di Jakarta 21,9% (dengan pemeriksaan langsung tinta india dan kultur).^{14,15}

2.2.2.2 Kriptokokosis Kulit

Prevalensi kriptokokosis kulit pada individu imunokompromis adalah 15%. Kelainan kulit yang muncul diantaranya adalah pustul, papul, purpura, selulitis, granuloma superfisial, lesi mirip akne sampai ulkus dan abses seperti yang tampak pada Gambar 2.5 dan 2.6. Mayoritas kriptokokosis kulit merupakan manifestasi dari kriptokokosis diseminata, namun infeksi primer pada kulit juga dapat terjadi.^{5,8}



Gambar 2.5. Kriptokokosis Kulit. Tampak kelainan berupa ulkus yang meluas dengan batas eritematosa dan infiltrat iregular.³⁴



Gambar 2.6. Kriptokokosis Kulit. Tampak kelainan berupa vesikel.³⁸

2.3. Diagnosis Kriptokokosis

Diagnosis kriptokokosis ditegakkan berdasarkan gejala klinis dan pemeriksaan laboratorium serta pemeriksaan radiologis. Diagnosis pasti ditegakkan bila ditemukan jamur penyebab pada bahan klinik. Untuk menemukan jamur dalam cairan otak dan jaringan dilakukan pemeriksaan mikologi secara langsung dengan tinta india dan kultur. Selain menemukan jamur dalam bahan klinik dapat dilakukan deteksi antigen dan deteksi DNA dengan teknik PCR.⁴

2.3.1. Pemeriksaan Mikologi

2.3.1.1. Pemeriksaan langsung dengan tinta india

Diagnosis pasti kriptokokosis ditegakkan dengan menemukan sel ragi berkapsul pada pemeriksaan langsung dengan tinta india. Kapsul akan tampak terang pada latar belakang tinta india yang berwarna gelap, karena partikel tinta india tidak diserap oleh kapsul *Cr. neoformans* (Gambar 2.7). Pemeriksaan tinta india akan memberikan hasil positif bila jumlah sel jamur 10^3 - 10^4 sel/ml cairan otak. Kapsul juga dapat diamati dengan menambahkan antibodi spesifik sehingga terjadi ikatan antara antibodi dengan polisakarida sebagai salah satu komponen kapsul.⁴



Gambar 2.7. Kelompok Sel *Cr. neoformans* dengan Pewarnaan Tinta India dari Spesimen Cairan Otak pada Penderita AIDS (atas kebaikan Wahyuningsih R, 2008).

2.3.1.2. Pemeriksaan kultur

Pemeriksaan kultur dapat dilakukan pada media agar sabouraud dextrosa (ASD) dan agar *bird sheed* (ABS), yang diinkubasi pada suhu kamar. Koloni jamur tumbuh setelah 48-72 jam. Koloni tampak mukoid berwarna krem hingga kuning pada media ASD dan coklat gelap pada media ABS.⁴

Kultur dapat dilakukan dari berbagai spesimen klinik, namun yang paling banyak diperiksa adalah cairan otak.

- a. Kultur pada media ADS dapat dilihat pada Gambar 2.8:



Gambar 2.8. *Cr. neoformans* pada Media SDA. Usia kultur tiga hari. Koloni berwarna krem-kuning dengan permukaan mukoid.³⁵

b. Media ABS

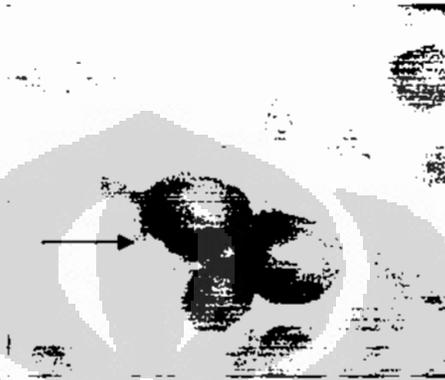
Koloni *Cr. neoformans* pada media ABS dapat dilihat pada Gambar 2.9.



Gambar 2.9. Koloni *Cr. neoformans* pada Media NSA. Tampak koloni berwarna coklat tengguli (Koleksi lab. Mikologi Departemen Parasitologi FKUI)

2.3.2 Pemeriksaan histopatologi

Pemeriksaan jaringan pada sediaan histopatologi dengan pewarnaan HE tampak sel ragi berwarna pucat. Dengan pewarnaan spesifik mucicarmine kapsul akan terwarna berwarna merah. (Gambar 2.10).



Gambar. 2.10. Gambaran *Cr. neoformans* pada Sediaan Histopatologi dengan Pewarnaan Mucicarmine. Kapsul sel ragi terwarna merah (Koleksi lab. Mikologi Departemen Parasitologi FKUI)

2.3.3. Uji Serologi

2.3.3.1. Deteksi Antigen

Pemeriksaan serologi dilakukan untuk mendeteksi antigen atau antibodi *Cr. neoformans*. Uji itu merupakan salah satu pemeriksaan penunjang dalam penegakan diagnosis kriptokokosis. Pemeriksaan deteksi antigen atau antibodi diperlukan karena beberapa hal yaitu pemeriksaan langsung dengan tinta india meskipun dapat memberikan hasil cepat, pada individu imunokompeten sensitifitasnya hanya 50% sedang pada penderita AIDS 80%. Hal itu disebabkan karena hasil pemeriksaan langsung hanya akan positif bila kadar sel berjumlah 10^3 - 10^4 sel/ml spesimen klinik.⁴ Pemeriksaan kultur membutuhkan waktu cukup lama yaitu lima hari.

Deteksi antigen atau antibodi *Cr. neoformans* yang dilakukan pada cairan tubuh dan dapat memberikan hasil dalam waktu yang lebih cepat. Deteksi antibodi tidak digunakan untuk kepentingan diagnostik karena dapat memberikan hasil positif setelah individu tidak terinfeksi. Deteksi antigen *Cr. neoformans* lebih banyak digunakan saat ini karena dapat menunjukkan hasil positif pada infeksi

akut/ kronis, sensitifitas dan spesifisitasnya tinggi. Deteksi antigen juga dapat mendeteksi polisakarida hingga 10 ng/ml sehingga dengan kadar antigen yang minimal tetap dapat mendiagnosis kriptokokosis. Antigen *Cr. neoformans* dapat dideteksi dari cairan otak, serum, bilasan bronkhus dan urin.⁴

Beberapa teknik yang digunakan untuk mendeteksi antigen GXM *Cr. neoformans* adalah: tes aglutinasi lateks (AL), *Enzym Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) dan *Enzym Immunoassay* (EIA). Tes aglutinasi lateks (AL) adalah teknik yang paling sering dipakai saat ini selain ELISA. Cara pemeriksaannya lebih sederhana dari pada teknik ELISA. Sensitivitas teknik aglutinasi lateks dapat mencapai 95%-100%. Sampai saat ini tes aglutinasi lateks belum memiliki standar baku untuk menentukan diagnosis kriptokokosis. Hasil positif dinyatakan bila terlihat aglutinasi atau penggumpalan hasil reaksi antigen GXM yang terdapat pada bahan klinik dengan antibodi monoklonal GXM yang melekat pada partikel lateks dengan hasil semikuantitatif dalam pengenceran tertentu.³⁹ (Gambar 2.11.)

Beberapa kit komersial telah tersedia di pasaran, yaitu *Pastorex-Crypto* (Bio Rad Perancis), *Crypto-LA* (International Biologica Lab., Cranbury NJ), *Myc Immune* (American Micro Scan, Mahwah NJ), *Immy* (Immuno mycologies, Norman, UK) dan *CALAS* (Meridian Diagnostic Inc., Cincinnati, OH). Mayoritas kit tersebut memiliki sensitivitas dan spesifisitas tinggi, namun dilaporkan juga terjadinya reaksi positif palsu. Hasil positif palsu dapat terjadi akibat faktor reuma,⁴⁰ keganasan,⁴¹ kontaminasi di laboratorium,⁴² *syneresis* selama perlakuan dengan menggunakan pipet di laboratorium, sabun dan desinfektan yang digunakan untuk mencuci,⁴³ pemakaian *hydroxyethyl starch* (HES) yang digunakan sebagai cairan pengganti intravaskular, reaksi silang dengan polisakarida yang dihasilkan oleh *S. pneumoniae*, *Cryptococcus* sp., *Klebsiella* dan *Trichosporon beigellii* dan faktor lain yang belum diketahui.⁴ Beberapa teknik dipakai untuk mencegah terjadinya positif palsu dan negatif palsu adalah penggunaan enzim proteolitik (pronase) untuk *pre treatment* bahan klinik, pemberian agen reduksi 2- β -mercaptoethanol, pemberian agen reduksi dithiothreitol, pemanasan bersamaan dengan EDTA, pemanasan sampai mendidih pada penangas air.⁴

Beberapa hal yang diduga dapat menyebabkan negatif palsu adalah efek *prozone* atau akibat proses *masking* antigen GXM oleh protein yang belum diketahui, kadar antigen rendah, tipisnya kapsul pada *strain* tertentu, kit yang digunakan tidak dalam kondisi baik dan GXM belum dilepaskan ke cairan tubuh yang diperiksa karena infeksi masih dini, namun negatif palsu sangat jarang terjadi.^{4,44} Fenomena efek *prozone* dapat diatasi dengan pemberian pronase pada saat sebelum pemeriksaan dan atau pengenceran spesimen klinis.⁴⁵



Gambar 2.11. Hasil Uji Aglutinasi Lateks. (Foto lab. Mikologi Departemen Parasitologi FKUI)

Reaksi aglutinasi banyak digunakan karena mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan canggih dan memberikan hasil yang cukup baik. Reaksi antigen antibodi dapat dilihat sebagai aglutinasi. Teknik itu tidak berbeda bermakna dengan tehnik ELISA yang memiliki sensitifitas dan spesifisitas tinggi.^{11,15}

Teknik ELISA merupakan teknik deteksi antigen *Cr. neoformans* yang banyak dipakai saat ini disamping tehnik LA. Teknik tersebut telah memiliki standar baku untuk menentukan diagnosis kriptokokosis, namun teknik ini membutuhkan keahlian khusus karena prosesnya lebih rumit dan biayanya lebih mahal dibandingkan dengan tehnik LA.

2.3.3.2. Deteksi Antibodi

Deteksi antibodi dapat dilakukan dengan deteksi IgA dan IgG, tetapi deteksi antibodi memiliki beberapa kelemahan, diantaranya: tidak menunjukkan hasil positif pada infeksi akut, hal itu karena pembentukan antibodi membutuhkan waktu. IgA masih positif setelah 1-2 tahun fase penyembuhan, sedangkan IgG dapat persisten sehingga terdeteksinya antibodi belum tentu menunjukkan individu mengalami infeksi aktif. Pada individu immunokompromis menunjukkan hasil yang sangat kompleks dan dalam menentukan diagnosis sering naik turun tidak konsisten. Kondisi immunokompromis mengakibatkan sel-sel kekebalan tubuh menurun atau tidak ada sama sekali sehingga hanya sedikit terbentuk antibodi atau bahkan tidak terbentuk sama sekali. Teknik tersebut lebih banyak digunakan dalam studi seroepidemiologi dan tidak digunakan untuk keperluan diagnosis.⁴ Deteksi antibodi dari cairan tubuh diketahui kurang bermanfaat untuk penegakan diagnosis.

2.3.3.3. Teknik Biologi Molekular

Teknik biologi molekular telah berkembang pesat pada dekade terakhir. Teknik tersebut sangat spesifik, namun prosesnya lebih rumit, memerlukan peralatan khusus dan biaya yang dibutuhkan cukup mahal. Kelemahan teknik biomolekular pada *Cr. neoformans* adalah terjadinya kontaminasi polisakarida terhadap DNA dan RNA yang sulit dihindari dan rendahnya frekuensi rekombinasi homolog. Teknik PCR tidak digunakan untuk pemeriksaan rutin pasien kriptokokosis, teknik tersebut lebih banyak dipakai untuk keperluan riset.⁴

BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Desain penelitian ini adalah *cross sectional* analitik dengan jenis uji diagnostik.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Mikologi Departemen Parasitologi FKUI. Waktu penelitian adalah kurang lebih enam bulan (Mei 2008 – Oktober 2008).

3.3 Populasi dan sampel

3.3.1 Populasi :

Pasien AIDS dengan gangguan susunan saraf pusat (SSP).

3.3.2 Sampel :

Cairan otak pasien AIDS dengan gangguan SSP yang diterima di laboratorium Mikologi Departemen Parasitologi FKUI untuk pemeriksaan mikologi dalam rangka menegakkan diagnosis.

3.4. Besar Sampel

Jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini ditentukan dengan perhitungan statistik yaitu :

$$n_1 = n_2 = \frac{2SD^2 (Z_\alpha + Z_\beta)^2}{(\Delta^2)}$$

Keterangan:

$n_1 = n_2$ = besar sampel yang akan diperiksa

n_1 = sampel dengan pemeriksaan mikologi positif

n_2 = sampel dengan pemeriksaan mikologi negatif

$\alpha = 5\% = 0,95 = Z_{0,95} = 1,96$

$$\beta = 20\% = 1 - \beta = 80\% = Z_{0,80} = 0,842$$

$\Delta = \bar{x}_1 - \bar{x}_2 =$ perbedaan pengenceran minimal yang bermakna secara klinis
 $= 838,64072$

$$SD^2 = 2.075.614,9$$

$$\begin{aligned} n1 = n2 &= \frac{2SD^2 (Z\alpha + Z\beta)^2}{(\Delta^2)} \\ &= \frac{2(2.075.614,9)^2 (1,96 + 0,842)^2}{(838,64072)^2} \\ &= 46 \end{aligned}$$

Sampel yang dibutuhkan adalah 46 bahan klinik untuk tiap kelompok.

Sampel yang diteliti pada penelitian ini adalah 52 sampel cairan otak untuk tiap kelompok.

3.5. Pengumpulan sampel

Pengumpulan sampel berupa cairan otak dilakukan di Laboratorium Mikologi Departemen Parasitologi FKUI. Semua sampel cairan otak yang dikirim ke laboratorium untuk pemeriksaan mikologi dikumpulkan (*consecutive sampling*). Sebagian sampel telah disimpan di Laboratorium Mikologi pada suhu -20°C (78 sampel).

3.6 Pemeriksaan cairan otak

Pemeriksaan *Cryptococcus* dilakukan pada cairan otak, dilakukan dengan dua jenis pemeriksaan yaitu pemeriksaan mikologi dan pemeriksaan deteksi antigen *glucuronoxylomannan* (GXM) *Cryptococcus neoformans*.

3.6.1 Pemeriksaan Mikologi

Pemeriksaan mikologi yang dilakukan adalah pemeriksaan langsung dengan tinta india dan pemeriksaan kultur jamur pada media agar sabourhaud

dekstrosa (ASD) dan agar bird seed (ABS). Pemeriksaan mikologi tersebut dilakukan untuk menentukan kelompok penelitian.

1. Kelompok mikologi positif (KM+): Bila hasil pemeriksaan cairan otak dengan tinta india dan kultur positif atau sel ragi berkapsul tidak ditemukan pada pemeriksaan langsung namun jamur dapat diisolasi dari pemeriksaan kultur atau pemeriksaan tinta india positif namun kultur negatif.
2. Pemeriksaan mikologi negatif (KM-): Bila hasil pemeriksaan cairan otak dengan tinta india dan kultur negatif.

3.6.1.1 Alat dan Bahan Penelitian yang diperlukan

1. Sentrifuga
2. Gelas objek
3. Gelas penutup
4. Sengkelit
5. Gas dan api
6. Mikroskop
7. Tinta india
8. Media kultur ASD dan ABS

3.6.1.2 Cara Kerja:

1. Pemeriksaan langsung tinta india

Cairan otak diputar dengan kecepatan 5000-6000 rpm selama 5 menit. Endapan diambil dengan sengkelit yang telah disterilkan dengan api kemudian diletakkan pada gelas obyek. Satu tetes tinta india diletakkan dekat dengan spesimen, kemudian dicampur hingga rata. Sediaan ditutup dengan kaca penutup, kemudian diperiksa dengan mikroskop obyektif pembesaran 10 dan 40x.

Penilaian hasil :

- Positif: ditemukan sel ragi bersimpai baik tunggal maupun berkelompok.

- Negatif: tidak ditemukan sel ragi bersimpai baik tunggal maupun berkelompok.

2. Pemeriksaan Kultur/Biakan

Cairan otak yang sama diambil endapannya dengan sengkeli yang telah disterilkan, kemudian digoreskan pada media ASD dan ABS. Hasil penanaman di inkubasi pada suhu kamar selama 3-10 hari dan diamati tiap hari.

Penilaian hasil :

- Pada media ASD: tumbuh koloni ragi putih kekuningan. Koloni yang tumbuh diperiksa dengan tinta india, untuk memastikan koloni jamur yang tumbuh adalah koloni *Cryptococcus*.
- Pada media ABS: *Cryptococcus* akan membentuk koloni ragi yang berwarna coklat gelap.

3.6.2 Pemeriksaan deteksi antigen GXM *Cryptococcus neoformans*

Deteksi antigen GXM pada kelompok mikologi negatif dimulai dengan *neat* (tanpa pengenceran) dan dilanjutkan pengenceran 100×, 300×, 500× hingga didapat hasil negatif untuk seluruh sampel.

Deteksi antigen GXM pada kelompok mikologi positif sama seperti perlakuan pada kelompok mikologi negatif

3.6.2.1 Alat dan Bahan yang diperlukan

1. Vorteks
2. Penangas air yang dilengkapi dengan pengukur suhu
3. *Rotating shaker*
4. Kompor listrik dan gelas pireks
5. Tabung *ependorf* 1,5 ml
6. Kit PASTOREX™ *CRYPTO PLUS* 61747 (kat. 7EM2093, Bio-Rad Perancis).

3.6.2.2 Cara Kerja

Neat (tanpa pengenceran):

Dengan menggunakan pipet 120 μl , bahan klinik dimasukkan dalam eppendorf yang baru. Ditambahkan 20 μl pronase, kemudian divorteks. Spesimen klinik yang telah ditambah pronase diinkubasi dalam penangas air pada suhu 56°C selama 30 menit, untuk inaktivasi virus HIV yang terdapat pada bahan klinik. Setelah selesai kemudian diangkat dan dimasukkan ke dalam air mendidih selama lima menit. Spesimen diambil dan didiamkan beberapa menit, kemudian vorteks ulang. Diambil 40 μl spesimen dan diletakkan pada kertas baca. Ditambahkan 1 tetes antibodi monoklonal, kemudian diaduk dengan stik khusus. Digoyang pada *rotating shaker* dengan kecepatan 150 rpm selama 5 menit. Kertas baca diambil dan didiamkan, selanjutnya dibaca dan dilakukan interpretasi.⁴⁸

Pengenceran:

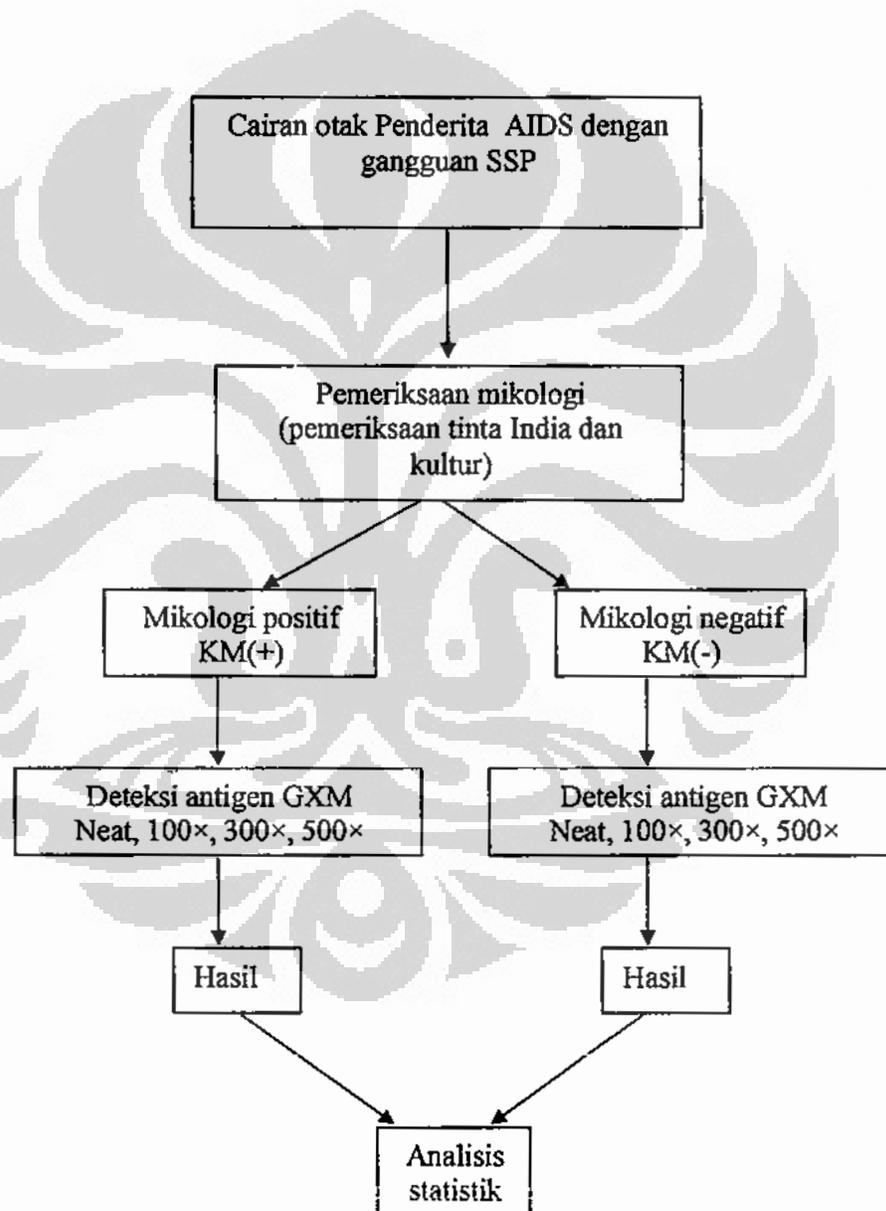
Sebanyak 4 μl bahan klinik yang telah mengalami perlakuan ditambah 396 μl cairan *buffer saline* (BS) untuk mendapatkan pengenceran $100\times$. Untuk pengenceran $300\times$ dan $500\times$ bahan klinik diambil dari bahan yang sudah mengalami perlakuan dan diencerkan $100\times$. Untuk pengenceran $300\times$, diambil 100 μl dilusi $100\times$ ditambah BS yang tersedia dalam kit 200 μl (pengenceran $300\times$). Untuk dilusi $500\times$ diambil 100 μl dilusi $100\times$, kemudian ditambahkan BS 400 μl (dilusi $500\times$). Semuanya dilakukan dalam tabung eppendorf baru. Selanjutnya sampel dapat diperiksa dengan cara yang sama yaitu 40 μl sampel hasil titrasi diambil dan diletakkan pada kertas baca, kemudian ditambahkan 1 tetes antibodi monoklonal. Diaduk dengan stik khusus, kemudian digoyang pada *rotating shaker* dengan kecepatan 150 rpm selama 5 menit. Kertas baca diambil dan didiamkan, kemudian dilakukan pembacaan dan interpretasi hasil.⁴⁷

3.7 Analisis Data

- a. Data yang terkumpul akan dicatat di dalam formulir khusus
- b. Data diolah dengan SPSS 12

- c. Untuk mengetahui resiko tertular *cryptococcus* dilakukan penghitungan rasio prevalens (RP) dengan menghubungkan hasil pemeriksaan mikologi dan data demografis.
- d. Analisis Statistik dengan uji *Mc Nemar*
- e. Dicari *cut off poin*

3.8 Alur Penelitian



BAB 4 HASIL PENELITIAN

4.1. Karakteristik Subyek

Seluruh subyek penelitian ini adalah penderita AIDS dengan gangguan SSP. Subyek penelitian terdiri atas 84 orang laki-laki dan 20 orang perempuan. Usia subyek penelitian paling muda 17 tahun dan paling tua berusia 62 tahun. Konsentrasi terbanyak pada rentang usia 25-30 tahun yaitu 38 orang diikuti kelompok umur 20-25 tahun yaitu 23 orang, namun tidak diketahui bagaimana cara pasien tersebut mendapat infeksi HIV (Tabel 4.1). Pasien-pasien tersebut bertempat tinggal di wilayah Jabodetabek (99 orang) dan Bandung (5 orang).

Tabel 4.1. Sebaran karakteristik demografik

Karakteristik demografik	Jumlah	%
Jenis kelamin		
Laki-laki	84	80,8
Perempuan	20	19,2
Kelompok umur		
> 40 thn	2	2,5
35 – 40 thn	6	7,4
30 – 35 thn	10	12,4
25 – 30 thn	38	46,9
20 – 25 thn	23	28,4
< 20 thn	2	2,5

4.2. Pemeriksaan Mikologi

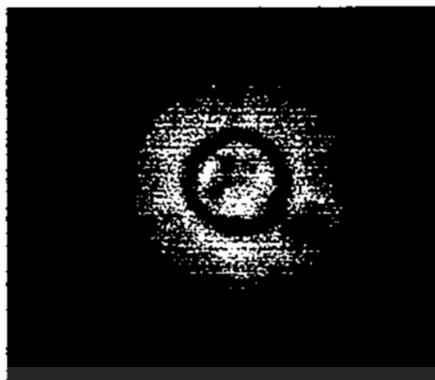
Sebagian sampel cairan otak adalah koleksi laboratorium Mikologi Departemen Parasitologi FKUI. Koleksi tersebut telah menjalani pemeriksaan mikologi (tinta india dan kultur) dengan hasil positif dan negatif (78 sampel). Sebagian sampel adalah sampel baru yang memerlukan pembuktian (26 sampel). Untuk sampel baru dilakukan pemeriksaan mikologi yang terdiri atas pemeriksaan

tinta india dan kultur pada agar Sabouraud dan agar bird sccd untuk memudahkan identifikasi. Pemeriksaan mikologi pada 104 pasien memberikan hasil 52 orang mengandung *Cryptococcus* pada cairan otaknya sehingga digolongkan menjadi kelompok mikologi positif (KM+). Sisanya sebanyak 52 orang memberikan hasil negatif atau tidak ditemukan jamur baik pada tinta india maupun kultur sehingga dikelompokkan menjadi kelompok mikologi negatif atau KM- (Tabel 4.2)

Tabel 4.2. Sebaran Hasil Pemeriksaan Mikologi pada Sampel Cairan Otak Penderita AIDS (n = 104)

Pemeriksaan Mikologi	Jumlah	%
Positif (KM+)	52	50,0
Negatif (KM-)	52	50,0
Jumlah	104	100,0

Pada pemeriksaan langsung dengan tinta india, *Cr. neoformans* tampak sebagai sel ragi berkapsul tebal dengan latar belakang hitam. (Gambar 4.1.) Hasil pemeriksaan kultur pada media ASD jamur tumbuh sebagai koloni ragi berwarna putih dengan permukaan licin (Gambar 4.2.A) setelah inkubasi selama paling cepat 72 jam dan paling lama 10 hari. Pada media ABS jamur tumbuh sebagai koloni ragi yang berwarna coklat gelap (Gambar 4.2.B). Pada kedua medium tersebut biasanya jamur tumbuh dalam waktu 3-7 hari.



Gambar 4.1. Hasil Pemeriksaan Langsung Cairan Otak dengan Tinta India; *Cr. neoformans* tampak sebagai sel ragi berkapsul tebal pada latar belakang hitam.



Gambar. 4.2.A Koloni *Cr. neoformans* pada Media ASD. Koloni ragi berwarna putih dengan permukaan licin. 4.2.B. Koloni *Cr. neoformans* pada media ABS. Jamur tumbuh sebagai koloni ragi berwarna coklat gelap.

Untuk mengetahui faktor yang berpengaruh (faktor penentu) terhadap resiko infeksi dilakukan penghitungan rasio prevalens (RP). Bila hasil

pemeriksaan mikologi dihubungkan dengan umur didapat RP sebesar 1,0, sedangkan bila dihubungkan dengan jenis kelamin nilai RP adalah 1,1 (Tabel 4.3).

Tabel 4.3. Hubungan Faktor Penentu dan Hasil Pemeriksaan Mikologi

Faktor penentu	Mikologi		RP
	Positif	Negatif	
Jenis Kelamin			1,1
Laki-laki	43	41	
Perempuan	9	11	
Kelompok Umur			1,0
> = 20 thn	40	39	
< 20 thn	1	1	

4.3 Pemeriksaan Serologi

Deteksi antigen GXM dilakukan dengan memakai teknik aglutinasi lateks (kit *Pastorex-BIORAD*, kat. 7EM2093, Perancis). Hasil positif ditunjukkan dengan terjadinya aglutinasi (Gambar 4.3). Aglutinasi berwarna merah karena indikator yang dipakai untuk memudahkan pembacaan.



Gambar.4.3. Deteksi Antigen GXM pada Cairan Otak: reaksi positif antigen GXM *Cr. neoformans* dengan teknik aglutinasi lateks. Tampak aglutinasi dengan gumpalan kasar.

Hasil pemeriksaan deteksi antigen GXM pada 52 spesimen cairan otak pada KM(+) adalah sebagai berikut, pemeriksaan tanpa pengenceran memberikan hasil positif pada 51 sampel dan satu sampel negatif. Pengenceran 100×, 48 sampel menunjukkan hasil positif dan empat sampel negatif, sedangkan pada pengenceran 300×, 45 sampel memberikan hasil positif dan tujuh sampel hasilnya negatif. Pada pengenceran 500× hasil positif hanya ditemukan pada 36 sampel dan 16 sampel negatif (Tabel 4.4).

Tabel 4.4. Hasil Pemeriksaan Deteksi Antigen GXM pada Kelompok Mikologi Positif

		Cairan Otak			
		Tanpa Pengenceran	Pengenceran 100×	Pengenceran 300×	Pengenceran 500×
Deteksi GXM	Positif	51 (98,1%)	48 (92,3%)	45 (86,5%)	36 (69,2%)
	Negatif	1 (1,9%)	4 (7,7%)	7 (13,5%)	16 (30,8%)
Total		52	52	52	52

Hasil pemeriksaan deteksi antigen GXM pada 52 spesimen cairan otak untuk KM(-) adalah sebagai berikut, pemeriksaan tanpa pengenceran memberikan hasil negatif pada 33 sampel dan 19 sampel positif. Pada dilusi 100× ditemukan 36 sampel memberikan hasil negatif dan 16 sampel hasilnya positif, sedangkan pada pengenceran 300×, 51 sampel memberikan hasil negatif dan satu sampel hasilnya positif. Pada pengenceran 500× seluruh sampel memberikan hasil negatif (Tabel 4.5).

Tabel 4.5. Hasil Pemeriksaan Deteksi Antigen GXM pada Kelompok Mikologi Negatif

		Cairan Otak			
		Tanpa pengenceran	Pengenceran 100×	Pengenceran 300×	Pengenceran 500×
Deteksi	Positif	19 (36,5%)	16 (30,8%)	1 (1,9%)	0 (0%)
GXM	Negatif	33 (63,5%)	36 (69,2%)	51(98,1%)	52 (100%)
Total		52	52	52	52

Untuk menetapkan pengenceran yang dapat digunakan sebagai nilai batas dilakukan uji *Mc Nemar* terhadap hasil pemeriksaan mikologi dan serologi.

Tabel 4.6. Hubungan Deteksi GXM tanpa Pengenceran dan Pemeriksaan Mikologi

		Pemeriksaan mikologi		
		positif	Negatif	Total
Deteksi	Positif	51	19	70
GXM	Negatif	1	33	34
Total		52	52	104

Ket: Nilai $P = 0,000$ (Uji *Mc Nemar*)

Sensitivitas = 98,1%

Spesifisitas = 63%

Nilai Prediksi Positif = 73%

Nilai Prediksi Negatif = 97%

Uji *Mc Nemar* pada KM(+) dan KM(-) untuk deteksi GXM pada cairan otak tidak diencerkan dan pemeriksaan mikologi memperlihatkan perbedaan bermakna ($p = 0.000$, $p < 0.05$). Nilai kesepakatan (*measure of agreement = kappa*) yang menunjukkan kesetaraan antara pemeriksaan mikologi dan deteksi GXM tanpa pengenceran adalah 0,612. Sensitivitasnya 98,1%, sedangkan

spcsifitasnya 63%. Nilai prediksi positif (NPP) pemeriksaan tanpa pengenceran 73% dan nilai prediksi negatif (NPN) 97% (Tabel 4.6).

Tabel 4.7. Hubungan Deteksi GXM Pengenceran 100× dan Pemeriksaan Mikologi

		Pemeriksaan mikologi		
		Positif	Negatif	Total
Deteksi	Positif	48	16	64
GXM	Negatif	4	36	40
Total		52	52	104

Ket: Nilai $P = 0,012$ (Uji *Mc Nemar*)

Sensitivitas = 92,3%

Nilai Prediksi Positif = 75%

Spesifisitas = 69,2%

Nilai Prediksi Negatif = 90%

Analisis statistik dengan uji *Mc Nemar* pada KM(+) dan KM(-) dihubungkan dengan deteksi GXM dilusi 100× memperlihatkan perbedaan bermakna ($p = 0,012$, $p < 0,05$). Nilai kesepakatan antara pemeriksaan mikologi dan deteksi GXM pengenceran 100× adalah 0,615. Hasil penghitungan sensitivitas pemeriksaan dengan pengenceran 100× sebesar 92,3 %, sedangkan spesifisitasnya 69,2%. NPP pemeriksaan tersebut adalah 75 % dan NPN nya sebesar 90 %.

Tabel 4.8. Hubungan Deteksi GXM Pengenceran 300x dan Pemeriksaan Mikologi

		Hasil pemeriksaan mikologi		
		Positif	Negatif	Total
Deteksi	Positif	45	1	46
GXM	Negatif	7	51	58
Total		52	52	104

Ket: Nilai $P = 0,07$ (Uji *Mc Nemar*)
 Sensitivitas = 86,5% Spesifisitas = 98,1%
 Nilai Prediksi Positif = 97,8% Nilai Prediksi Negatif = 87,9%

Analisis statistik dengan uji *Mc Nemar* pada KM(+) dan KM(-) dihubungkan dengan dilusiterhadap deteksi GXM dengan pengenceran 300× (Tabel 4.8) memberikan hasil tidak terdapat perbedaan bermakna ($p = 0,070, p > 0,05$). Nilai *kappa* antara pemeriksaan mikologi dan deteksi GXM metode aglutinasi lateks pengenceran 300× adalah 0,846. Sensitivitas pemeriksaan dengan pengenceran 300× sebesar 86,5%, sedangkan spesifitasnya 98,1 %. NPP pemeriksaan tersebut adalah 97,8% dan NPN nya sebesar 87,9 %.

Tabel 4.9. Hubungan Deteksi GXM Pengenceran 500x dan Pemeriksaan Mikologi

		Hasil pemeriksaan mikologi		
		Positif	Negatif	Total
Deteksi	Positif	36	0	36
GXM	Negatif	16	52	68
Total		52	52	104

Ket: Nilai $P = 0,000$ (Uji *Mc Nemar*)
 Sensitivitas = 69,2% Spesifisitas = 100%
 Nilai Prediksi Positif = 100% Nilai Prediksi Negatif = 76,5%

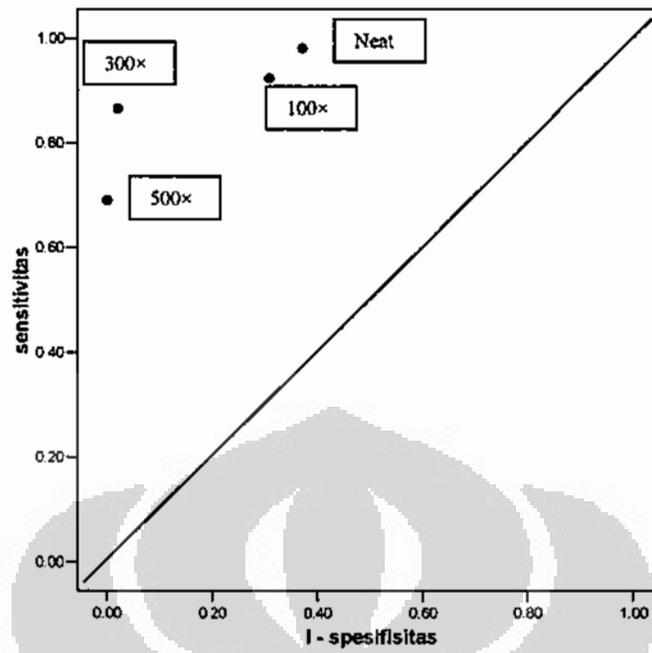
Analisis statistik dengan uji *Mc Nemar* pada KM(+) dan KM(-) terhadap deteksi GXM pada Tabel 4.9 memperlihatkan adanya perbedaan bermakna ($p = 0,000, p < 0,05$). Nilai *kappa* antara pemeriksaan mikologi dan deteksi GXM metode aglutinasi lateks pengenceran 500× adalah 0,692. Nilai sensitivitas pemeriksaan dengan pengenceran 500× adalah 69,2%, sedangkan spesifitasnya 100 %. NPP 100% dan NPN pemeriksaan tersebut 76,5 %.

Tabel 4.10. Sensitifitas, Spesifisitas, Nilai Prediksi Positif dan Nilai Prediksi Negatif Deteksi Antigen GXM pada Cairan Otak

	Tanpa pengenceran	Pengenceran 100×	Pengenceran 300×	Pengenceran 500×
Sensitivitas	98,1%	92,3%	86,5%	69,2%
Spesifisitas	63%	69,2%	98,1%	100%
NPP	73%	75%	97,8%	100%
NPN	97%	90%	87,9%	76,5%

Dari Tabel 4.10 dapat dilihat bahwa nilai sensitifitas tertinggi ada pada cairan otak yang tidak diencerkan (98,1%), sedangkan spesifisitas terbaik ada pada dilusi 500× (100%). Kombinasi sensitivitas dan spesifisitas terbaik ada pada dilusi 300× yaitu 86,5% dan 98,1%.

Titik temu sensitivitas dan spesifisitas deteksi GXM pada keempat dilusi sampel pada grafik ROC menunjukkan bahwa titik pemeriksaan dengan pengenceran 300× (No.2) terletak paling kiri atas dan merupakan kombinasi terbaik dengan spesivisitas 98,1% dan sensitivitas 86,5% (Gambar 4.4).



Gambar 4.4 Gambar kurva ROC Titik Pertemuan Sensitivitas dan 1-Spesifisitas dari keempat Pemeriksaan Antigen GXM

BAB 5

PEMBAHASAN

Kriptokokosis adalah infeksi yang disebabkan oleh jamur *Cryptococcus* sp. Sebagian besar disebabkan oleh *Cr. neoformans* dan dalam jumlah lebih sedikit oleh *Cryptococcus gattii*.^{5,6} Kriptokokosis neoformans biasanya terjadi pada pasien dengan gangguan sistem imun seperti AIDS namun ditemukan juga pada penderita non AIDS.³³ Sebelum pandemi AIDS, kriptokokosis merupakan penyakit yang bersifat sporadis dan ditemukan pada pasien dengan penurunan imunitas seperti pasien leukemia, limfoma, sarkoidosis, sirosis, penggunaan kortikosteroid jangka panjang serta penderita dengan transplantasi organ.³⁵ Setelah terjadi pandemi AIDS prevalensi kriptokokosis meningkat, dan di Jakarta tercatat 21,9%.^{15,33}

Manifestasi klinis yang paling banyak ditemukan pada pasien AIDS adalah meningitis. Kriptokokosis meningeal merupakan penyebab kecacatan tertinggi pada penderita AIDS yang mengalami gangguan SSP.¹⁶ Selain itu, angka kematiannya cukup tinggi, berkisar antara 13-44%.¹⁷ Berdasarkan hal itu sangat diperlukan diagnosis dini agar pengobatan dapat segera diberikan sehingga angka kecacatan dan kematian dapat diturunkan. Salah satu alternatif dalam upaya menegakkan diagnosis dini adalah deteksi antigen GXM dalam cairan tubuh.

Penelitian ini mendeteksi GXM pada cairan otak dari pasien AIDS dengan gangguan SSP. Cairan otak tersebut berasal dari 84 laki-laki dan 20 orang perempuan. Pada penelitian ini ditemukan laki-laki penderita kriptokokosis lebih banyak daripada perempuan. Ada beberapa alasan yang menyebabkan keadaan tersebut. Pertama, karena infeksi erat kaitannya dengan lingkungan (di alam), dianggap laki-laki lebih terpajan jamur akibat pekerjaannya di luar rumah. Kedua ditemukan bukti bahwa hormon estrogen pada perempuan dapat menghambat pertumbuhan jamur.^{9,12,48} Hal itu didukung hasil penghitungan RP penelitian ini bahwa laki-laki lebih berisiko mendapatkan kriptokokosis (RP = 1,1 Tabel 4.4) Pada penelitian ini didapatkan usia pasien terbanyak ada pada rentang 25-30 tahun dan diikuti rentang usia 20-25 tahun yang merupakan kelompok usia

produktif. Diketahui bahwa di Jakarta pasien terinfeksi HIV umumnya adalah kelompok usia produktif yang mendapatkan HIV karena pemakaian narkotika suntik.⁴⁸ Pada penelitian ini seluruh pasien yang diteliti adalah pasien terinfeksi HIV yang telah memasuki fase AIDS, namun tidak diketahui bagaimana cara mereka mendapatkan infeksi HIV. Hasil perhitungan RP antara umur dan hasil pemeriksaan mikologi menunjukkan bahwa umur bukan merupakan faktor resiko terhadap kejadian kriptokokosis pada penderita AIDS.

Pada pemeriksaan langsung dengan tinta India ditemukan khamir berkapsul tebal, sedangkan pada kultur dengan medium ASD tumbuh koloni khamir dengan permukaan licin dengan warna bervariasi dari putih sampai kekuningan. Pemeriksaan mikroskopis koloni dengan tinta India menemukan khamir berkapsul. Koloni yang tumbuh pada medium ABS adalah koloni khamir yang berwarna coklat tengguli. Secara morfologi *Cryptococcus* dikenal sebagai khamir bersimpai. Selain itu *Cryptococcus* juga membentuk melanin yang dapat dilihat bila jamur ditanam pada media ABS. Pada medium tersebut jamur tumbuh sebagai koloni khamir coklat tengguli yang menunjukkan pembentukan melanin oleh *Cryptococcus*.⁴⁸ Berdasarkan pemeriksaan diatas dapat dipastikan bahwa jamur yang ditemukan dan diisolasi adalah *Cryptococcus*.

Pemeriksaan mikologi pada 104 pasien memberikan hasil 52 orang mengandung *Cryptococcus* pada cairan otaknya sehingga digolongkan menjadi kelompok mikologi positif (KM+). Sisanya sebanyak 52 orang memberikan hasil negatif atau tidak ditemukan jamur baik pada tinta India maupun kultur sehingga dikelompokkan menjadi kelompok mikologi negatif atau KM- (Tabel 4.2)

Pada penelitian ini dilakukan deteksi antigen GXM pada cairan otak penderita AIDS dengan gangguan SSP. Dilakukan pengenceran bertahap untuk menetapkan nilai antigen GXM yang dapat menyatakan penderita yang bersangkutan menderita kriptokokosis meskipun pada pemeriksaan mikologi tidak ditemukan jamur. Pemeriksaan dilakukan terhadap dua kelompok yaitu kelompok KM(+) dan KM(-).

Deteksi antigen GXM pada cairan otak yang tidak dicnccerkan, KM(+) mendapatkan hampir seluruh pasien memberikan hasil positif kecuali satu. Hal itu terjadi karena efek *prozone* yaitu karena tingginya kadar antigen sehingga berada

diluar ambang deteksi kit yang digunakan.⁴⁴ Hal itu terbukti setelah sampel diencerkan baik dengan pengenceran 100× dan 300× hasilnya menjadi positif. Sementara itu pada pengenceran 500× hasilnya negatif. Agaknya kadar GXM pada sampel tersebut sudah sangat rendah sehingga berada di luar daya deteksi kit ini (Tabel 4.9).

Pengenceran 100× kelompok KM+ jumlah hasil positif menurun menjadi 48 sampel, berarti pada kelompok tersebut terdapat pasien dengan kadar antigen cukup rendah yang hanya dapat terdeteksi pada sampel yang tidak diencerkan. Secara keseluruhan nilai sensitivitas dilusi 100× tinggi yaitu 92,3%, sedangkan spesifisitasnya hanya 69,2%. Sensitivitas menyatakan bahwa dengan pengenceran 100× dapat dideteksi 92,3% pasien menderita kriptokokosis, namun jika ditinjau dari segi spesifisitas, dilusi 100× hanya dapat menyatakan bahwa 69,2% pasien benar-benar negatif artinya tidak menderita kriptokokosis, sisanya mungkin negatif palsu yang terlihat pada pemeriksaan cairan otak tanpa pengenceran. Bila ditinjau dari nilai NPN pengenceran 100× memiliki daya prediksi negatif 90%, namun bila melihat kesetaraan antara deteksi GXM dan pemeriksaan mikologi yang merupakan baku emas hanya didapat nilai *kappa* 0,615, yang menunjukkan kesetaraan yang rendah. Sehingga pengenceran 100× tidak dapat digunakan untuk menetapkan diagnosis kriptokokosis. Hal itu didukung uji *Mc Nemar* yang memperlihatkan adanya perbedaan bermakna antara pemeriksaan mikologi dan deteksi GXM dengan pengenceran 100×.

Jumlah sampel hasil positif pada KM+ pada pengenceran 300× menurun menjadi 45 sampel, hal itu menunjukkan bahwa pada kelompok tersebut terdapat penderita dengan kadar antigen hanya dapat dideteksi dengan pengenceran 100× dan neat. Nilai sensitivitas dilusi 300× cukup baik yaitu 86,5%, sedangkan spesifisitasnya 98,1%. Ditinjau dari segi sensitivitas, dilusi 300× dapat mendeteksi 86,5% pasien menderita kriptokokosis dan 13,5% tidak terdeteksi. Nilai sensitivitas tinggi menunjukkan kemampuan tinggi untuk mendeteksi penyakit. Nilai spesifisitas menyatakan bahwa pengenceran 300× dapat menyatakan 98,1% sampel benar-benar negatif yang berarti tidak menderita kriptokokosis. Nilai spesifisitas yang tinggi menunjukkan rendahnya hasil negatif semu. Bila ditinjau dari nilai NPP pengenceran 300× memiliki daya prediksi

positif 97,8%, hal itu didukung oleh kesetaraan yang tinggi antara pengenceran 300× dan pemeriksaan mikologi ($kappa = 0,846$). Sehingga pengenceran 300× dapat digunakan untuk menetapkan diagnosis kriptokokosis. Uji *Mc Nemar* memperlihatkan tidak ada perbedaan bermakna antara pemeriksaan mikologi dan deteksi GXM, berarti uji tersebut memperkuat hasil analisis yang lain.

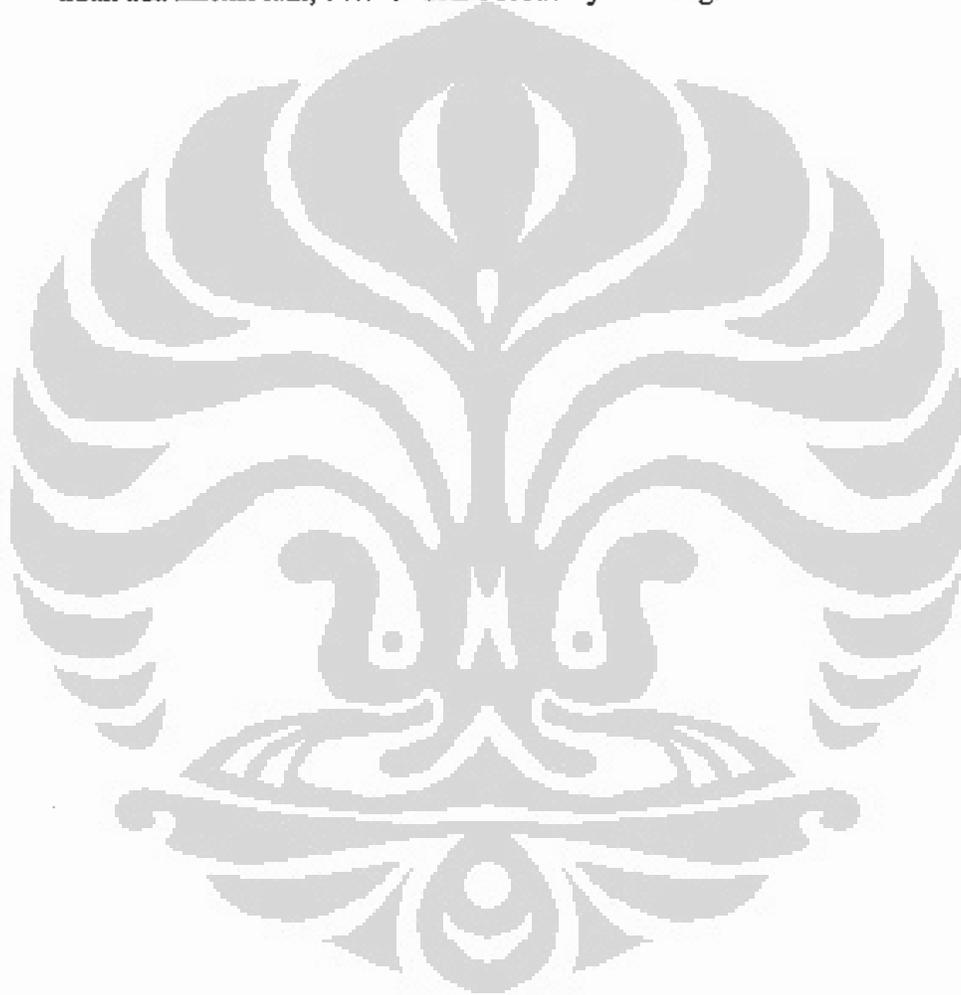
Penetapan dilusi 300× sebagai titik potong atau nilai batas penetapan diagnosis kriptokokosis meningeal didukung oleh hasil ROC yang menunjukkan bahwa dilusi 300× menduduki titik potong terbaik antara spesifisitas dan sensitivitas.

Hal yang harus diperhatikan dalam menetapkan dilusi 300× sebagai pengenceran yang bersifat diagnostik adalah ditemukan tujuh orang dengan pemeriksaan mikologi positif namun deteksi GXM dilusi 300× negatif. Kelompok tersebut masuk dalam area abu-abu yang memang normal ditemukan pada suatu populasi. Sehingga dianjurkan untuk memeriksa ulang GXM bila gejala klinis memang mengarah ke infeksi *Cryptococcus*, meskipun hasil deteksi GXM sebelumnya negatif.

Pada pengenceran 500× KM+ jumlah hasil positif juga menurun menjadi 36 sampel, berarti pada kelompok tersebut terdapat pasien dengan kadar antigen yang hanya dapat dideteksi hingga pengenceran 300×. Secara keseluruhan nilai sensitivitas dilusi 500× cukup rendah yaitu 69,2%, sedangkan spesifisitasnya sangat tinggi 100%. Nilai sensitivitas menyatakan bahwa dengan pengenceran 500× hanya dapat mendeteksi 69,2% pasien menderita kriptokokosis, berarti dilusi 500× menghasilkan positif palsu yang cukup tinggi. Ditinjau dari segi spesifisitas, dilusi 500× dapat menyatakan seluruh pasien benar-benar negatif, karena spesifisitasnya mencapai 100%. Bila ditinjau dari nilai NPP pengenceran 500× memiliki daya prediksi positif 100%, namun tidak didukung oleh kesetaraan dengan hasil pemeriksaan mikologi karena nilai $kappa$ yang rendah yaitu 0,692. Selain itu daya prediksi negatif dilusi 500× juga rendah yaitu 76,5%. Rendahnya NPN menunjukkan bahwa peluang pasien untuk tidak sakit dengan hasil pemeriksaan negatif hanya 76,5%, sisanya negatif palsu. Sehingga pengenceran 500× tidak dapat digunakan untuk menetapkan diagnosis kriptokokosis, hal itu

didukung uji *Mc Nemar* yang memperlihatkan adanya perbedaan bermakna antara pemeriksaan mikologi dan deteksi GXM tanpa pengenceran.

Keterbatasan penelitian ini adalah, hasil pemeriksaan laboratorium tidak dapat dihubungkan dengan gejala klinik pasien sehingga kadar GXM dalam cairan otak tidak dapat dihubungkan dengan berat-ringannya infeksi. Penelitian ini merupakan penelitian *cross sectional* yang tidak mengikuti perjalanan penyakit, maka bila didapat hasil negatif dan tidak ada perbaikan klinis serta dibuktikan tidak ada infeksi lain, deteksi GXM sebaiknya diulang.



BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Kriptokokosis meningeal pada penderita AIDS lebih banyak ditemukan pada laki-laki. Laki-laki lebih beresiko mendapatkan kriptokokosis meningeal daripada perempuan.
2. Kriptokokosis pada penderita AIDS dengan kriptokokosis meningeal paling banyak ditemukan pada rentang usia 20 -30 tahun yang merupakan kelompok usia produktif.
3. Deteksi GXM pada kelompok mikologi positif maupun negatif, memperlihatkan semakin tinggi pengenceran hasil negatifnya semakin banyak.
4. Pengenceran cairan otak untuk deteksi antigen GXM yang dapat membantu menegakkan diagnosis kriptokokosis meningeal pada pasien AIDS dengan gangguan SSP adalah pengenceran 300×.

6.2 Saran

1. Deteksi GXM untuk kriptokokosis pada penderita AIDS dengan gangguan SSP dilakukan pada pengenceran 300×.
2. Dilakukan penelitian lanjutan yang menghubungkan hasil deteksi GXM dengan informasi klinis sehingga didapat kesimpulan yang lebih solid dan faktor risiko lain dapat diketahui.

Daftar Pustaka

1. Abbas AK, Litchman AH. Immunity to microbe. In: Cellular and molecular Immunology 5th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005.p.345-66
2. Baratawidjaja KG. Defisiensi imun. Dalam: Baratawidjaja KG editor. Immunologi dasar. Edisi ke-7. Jakarta: Balai Penerbit FKUI 2006;334-5
3. Kumulatif kasus HIV/ AIDS di Indonesia. Diunduh dari www.aidsindonesia.or.id, 21 Oktober 2008
4. Casadeval A, Perfect R. Diagnosis and laboratory techniques. In: *Cryptococcus neoformans*. Washington: ASM Press;1998. p.381-99
5. Dupont B, Pappas PG, Dismukes WE. Fungal Infection among patients with AIDS. In: Dismukes WE, Pappas PG, Sobel JD, editors. Clinical Micology. Oxford: University Press; 2003.p.488-501
6. Richardson MD, Warnock DW. Fungal infection diagnosis and management. 3rd ed. Massachusets: Blackwell Publishing; 2003.p. 215-29
7. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. *Jawetz, Melrick, & Adelberg's Medical Microbiology*. 23rd ed. Boston: McGrawHill; 2004: p.647-9
8. Lakshmi V, Sudha T, Teja VD, Umabala P. Prevalence of central nervous system cryptococcosis in human immunodeficiency virus reactive hospitalized patients. *Indian J Med Microbiol* 2007; 25: 146-9
9. Inverarity D, Bradshaw Q, Wright P, Grant A. The Spectrum of a HIV-related disease in rural Central Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Publ Hlth* 2002;33(4): 822-31
10. Likasitwattanakul S, Poneprasert B, Sirisanthana V. Cryptococcosis in HIV-infected children. *Southeast Asian J TropMed Publ Hlth* 2004;35(4): 935-9
11. Maher D, Mwandumba H. Cryptococcal meningitis in Lilongwe and Blantyre, Malawi. *J Infect Dis* 1994;13:59-64
12. Dromer F, Mathoulin S, Dupont B, Laporte A, the French cryptococcosis study group. Epidemiology of cryptococcosis in France: A-9-year survey (1985-1993) *Clin Infect Dis* 1996;23:82-90
13. Micol R, Lortholary O, Sar B, Laureillard D, Ngeth C, Dousset J. *et al.* Prevalence, determinant of positivity, and clinical utility of cryptococcal antigenemia in Cambodian HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007;45(5):555-9

14. Bava AJ, Negroni R, Arechavala A, Robles AM, Bianchi M. Cryptococcosis associated with AIDS in the Muniez Hospital of Buenos Aires. *Mycopathol* 1997;140:13-17
15. Sjam R, Adawiyah R, Mulyati, Wahyuningsih R. Deteksi *Cryptococcus neoformans* pada cairan otak penderita HIV/AIDS: Morfologik dan serologik. Disampaikan pada simposium Parasitologi di Bali. Juni 2007
16. Subjai K, Kanoksri S, Siwaporn C, Helen L. Neurological complications in AIDS patients: the 1-year retrospective study in Chiang Mai University, Thailand. *Eur J Neurol* 2004;11:755-9
17. Bicanic T, Harrison TS. Cryptococcal meningitis. *Brit Med Bull* 2004;72:99-118
18. Mitchell TG, Perfect JR. Cryptococcosis in the Era of AIDS-100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans*. *Clin Microbiol Rev* 1995;8(4):515-48
19. Wahyuningsih R, Raeminto, Erwin F, Mulyati. *Cryptococcus neoformans* isolated from pigeon dropping (preliminary report) *Maj Kedok Indon* 2006;56(8):464-7
20. Susilo J. Isolasi *Cryptococcus neoformans* dari tanah di Jakarta. *Maj Kedok Indon* 1968;18(6-7): 134-5
21. Levitz SM. The ecology of *Cryptococcus neoformans* and the epidemiology of cryptococcosis. *Rev Infect Dis* 1991;13:1163-9
22. Kwon-Chung KJ, Boekhout T, Fell JW, Diaz M. Proposal to conserve the name *Cryptococcus gattii* against *Cryptococcus hondurianus* *Cryptococcus bacillisporus* (Basidiomycota, Hymenocetes, Tremellomycetidae). *Taxon* 2002;51:804-6
23. Diaz MR, Fell JW. Use of a suspension array for rapid identification of the varieties and genotypes of the *Cr. neoformans* species complex. *J Clin Microbiol* 2005;43:3662-72
24. Baddley JW, Dismukes WE. Cryptococcosis. In: Dismukes WE, Pappas PG, Sobel JD, editors. *Clinical Mycology*. Oxford: University Press; 2003. p.188-205
25. Sel raji *Cr. neoformans* dengan berbagai organelnya. Diunduh dari <http://www.Scq.ubc.ca>, tanggal 3 November 2008
26. Chamberlain JJ, Granger DL. *Cryptococcus neoformans*. In: Wilson WR, Sande MA, Drew WL, Hendry NK, Rielman DA, Steckelberg eds. *Current*

Diagnosis and Treatment in Infectious Diseases. 1st ed. New York: McGraw Hill/ Appleton & Lange; 2001. p.616

27. Okabayashi K, Hasegawa A, Watanabe T. Microreview: capsule-associated genes of *Cryptococcus neoformans*. Mycopathol 2007;163:1-8
28. Nishikawa MM, Lazera MS, Barbosa GG, Trilles L. Serotyping of 467 *Cryptococcus neoformans* isolates from clinical sources in Brazil: analisis of host and regional patterns. J Clin Microbiol 2003;41(1):73-77.
29. Gambar habitat *Cryptococcus neoformans*. Diunduh dari <http://www.cryptococcusneoformans.com>., tanggal 28/2/2008
30. Buchanan KL, Murphy JW. What Makes *Cryptococcus neoformans* a Pathogen?. Emerg Infect Dis 1998; 4(1):tidak ada
31. King JW, Markanday A. Cryptococcosis. Diunduh dari <http://www.emedicine.com>., 27 Juli 2007
32. Nunez M, Eacock E, Chin R. Immunocompetent host: therapy with oral fluconazole. A report of four cases. Chest 2000;118:572-3
33. Jaiswal SP, Hemwani N, Sharma N, Athale S, Chitnis DS. Prevalence of fungal meningitis among HIV positif and negatif. Indian J Med Sci 2002;56(7):325-9
34. Lacaz CS, Vaccari EMH, Arriagada GLH, Martins EL, Prearo CAL, Corim SM, Martins MA. Case report: primary cutaneous cryptococcosis due to *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* serotype B, in an immunocompetent patient. Rev Inst Med Trop S Paulo 2002; 44(4): 225-228
35. Singh N, Lortholory O, Alexander BD, Gupta KL, Pursell K. An immune reconstitution syndrome-like illness associated with *Cryptococcus neoformans* infection in organ transplant recipient. Clin Infect Dis 2005; 40: 1756-61
36. Antinori S, Galimberti L, Magni C, Casella A, Vago L, Mainini F, *et al*. Infection in a cohort of Italian AIDS patients: natural history, early prognostic parameters, and autopsy findings. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2000;20:711-7
37. Gambar kriptokokosis kulit. Diunduh dari <http://www.images.search.yahoo.com/images/search>. tanggal 10 maret 2008
38. Cryptococcosis. Diunduh dari <http://www.cryptoindexdrfungus.htm>, 20 September 2008

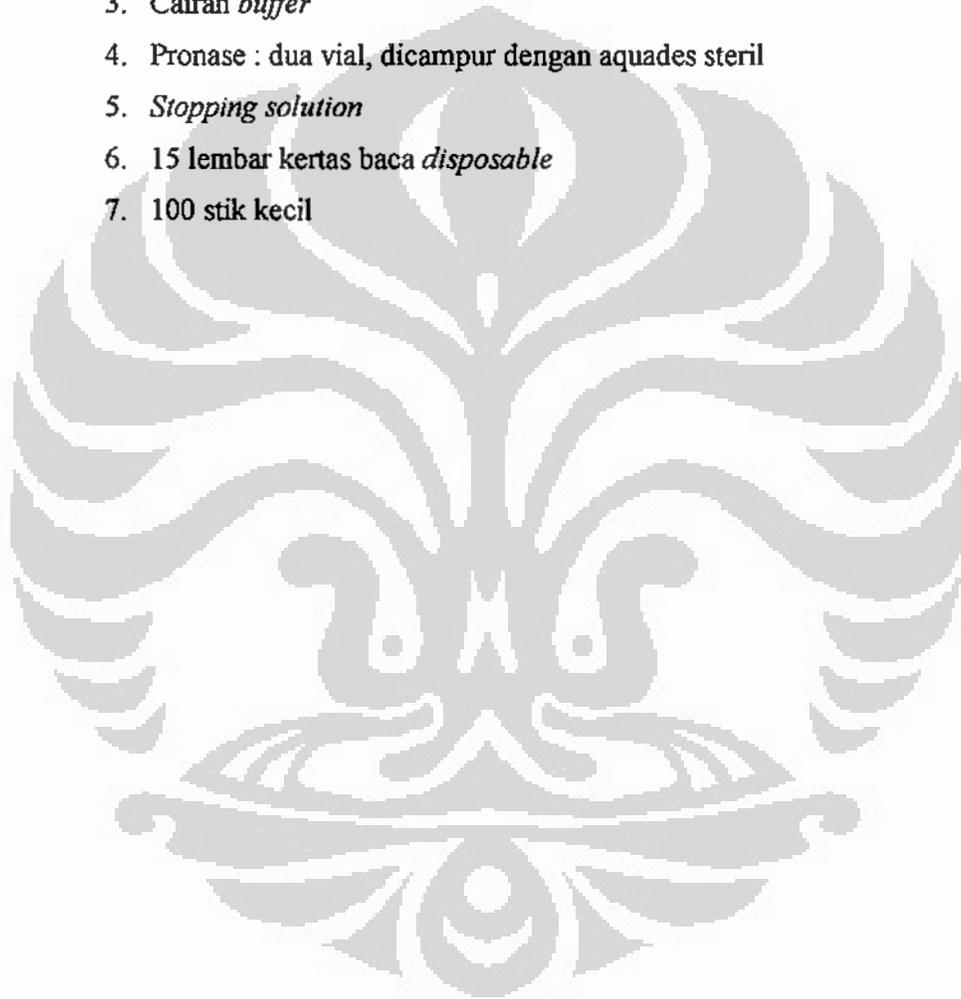
39. Bennet IE, Baily IW. Control for rheumathoid factor in the latex test for cryptococcosis. *Am J Clin Pathol* 1971;56:360-5
40. Hopfer RL, Perry EV, Fainstein V. Diagnostic value of cryptococcal antigen in the cerebrospinal fluid of patients with malignant disease. *J Infect Dis* 1982;145-915
41. Heelan IS, Copus L, Kessimian N. False-positif reactions in latex agglutination test for *Cryptococcus neoformans* antigen. *J Clin Microbiol* 1991; 29:1260-1
42. Blevins LB, Fenn J, Segal H, Newcomb-Gayman P, Carol KC. False positif cryptococcal antigen latex agglutination caused by desinfectans and soaps. *J Clin Microbiol* 1995; 33:1674-5
43. Hamilton JR, Noble A, Denning DW. Performance of cryptococcus antigen latex agglutination kits on serum and cerebrospinal fluid specimens of AIDS patients before and after pronase treatment. *J Clin Microbiol* 1991;29:333-9
44. Engler HD, Shea YR. Effect of potential interference factors on performance of enzym immunoassay and latex agglutination assay for cryptococcal antigen. *J Clin Microbiol* 1994; 32(9):2307-8
45. Buku panduan PASTOREX™ *CRYPTO PLUS* 61747. Detection of soluble *Cryptococcus neoformans* antigen in Biological Fluids.
46. Milogo A, Ki-Zerbo GA, Andonaba JB, Lankoandé D, Sawadogo A, Yaméogo I, *et al.* Cryptococcal meningitis in HIV-infected patients at Bobo-Dioulasso hospital (Burkina Faso). *Bull Soc Pathol Exot* 2004;97(2): 119-21
47. Mboi N, Smith KH. Current status of HIV/AIDS in Indonesia and prospect for its spread. In: 'Indonesia' fighting a rising tide: the response to AIDS in East Asia. Yamamoto I, Itoh S, editors. Tokyo: Japan centre for international exchange. 2006: 96-118
48. Ellis D, Davis S, Alexiou H, Handke R, Bartley R. Description of Medical Fungi. 2nd ed. Adelaide: Nexus Print Solution; 2007.p.52-4

Lampiran 1

Kit PASTOREX™ *CRYPTO PLUS* 61747 (kat. 7EM2093, Bio-Rad Perancis)

berisi :

1. Lateks *Cryptococcus* (1ml), berisi partikel lateks yang telah dilekatkan dengan antibodi monoclonal (anti GXM)
2. Kontrol antigen positif (0,5 ml)
3. Cairan *buffer*
4. Pronase : dua vial, dicampur dengan aquades steril
5. *Stopping solution*
6. 15 lembar kertas baca *disposable*
7. 100 stik kecil



Lampiran 2

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
hasil serologi tanpa pengenceran * hasil kultur mikologi	104	100.0%	0	.0%	104	100.0%
hasil serologi dengan pengenceran 100x * hasil kultur mikologi	104	100.0%	0	.0%	104	100.0%
hasil serologi dengan pengenceran 300x * hasil kultur mikologi	104	100.0%	0	.0%	104	100.0%
hasil serologi dengan pengenceran 500x * hasil kultur mikologi	104	100.0%	0	.0%	104	100.0%

hasil serologi tanpa pengenceran * hasil kultur mikologi

Crosstab

			hasil kultur mikologi		Total
			positif	negatif	
hasil serologi tanpa pengenceran	positif	Count	51	19	70
		% within hasil serologi tanpa pengenceran	72.9%	27.1%	100.0%
		% of Total	49.0%	18.3%	67.3%
	negatif	Count	1	33	34
		% within hasil serologi tanpa pengenceran	2.9%	97.1%	100.0%
		% of Total	1.0%	31.7%	32.7%
Total		Count	52	52	104
		% within hasil serologi tanpa pengenceran	50.0%	50.0%	100.0%
		% of Total	50.0%	50.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	Exact Sig. (2-sided)
McNemar Test		.000(a)
N of Valid Cases	104	

a. Binomial distribution used.

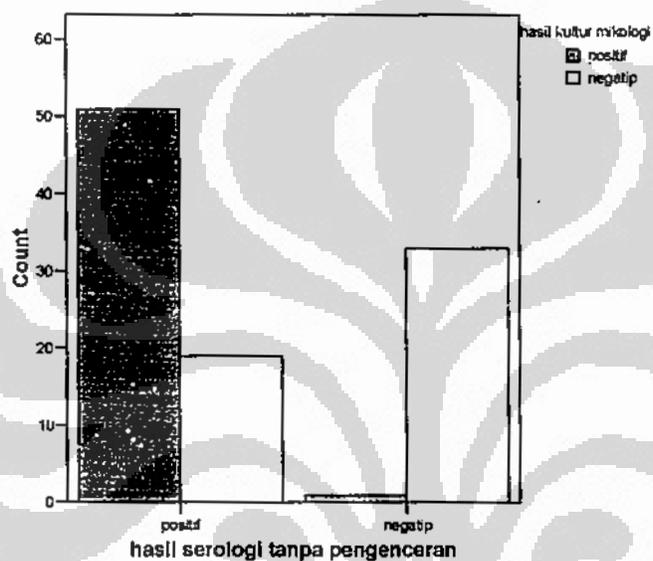
Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.615	.073	6.689	.000
N of Valid Cases		104			

a. Not assuming the null hypothesis.

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

Bar Chart



hasil serologi dengan pengenceran 100x * hasil kultur mikologi

Crosstab

			hasil kultur mikologi		Total
			positif	negatif	
hasil serologi dengan pengenceran 100x	positif	Count	48	16	64
		% within hasil serologi dengan pengenceran 100x	75.0%	25.0%	100.0%
		% of Total	46.2%	15.4%	61.5%
	negatif	Count	4	36	40
		% within hasil serologi dengan pengenceran 100x	10.0%	90.0%	100.0%
		% of Total	3.8%	34.6%	38.5%
Total		Count	52	52	104
		% within hasil serologi dengan pengenceran 100x	50.0%	50.0%	100.0%
		% of Total	50.0%	50.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	Exact Sig. (2-sided)
McNemar Test		.012(a)
N of Valid Cases	104	

a. Binomial distribution used.

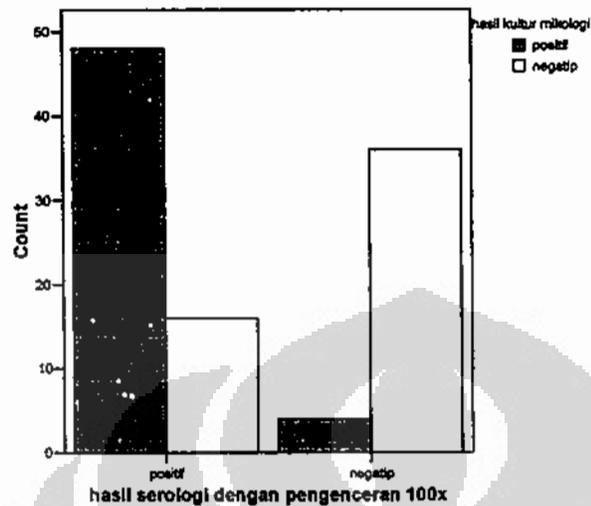
Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.615	.075	6.450	.000
N of Valid Cases		104			

a. Not assuming the null hypothesis.

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

Bar Chart



hasil serologi dengan pengenceran 300x * hasil kultur mikologi

Crosstab

			hasil kultur mikologi		Total
			positif	negatif	
hasil serologi dengan pengenceran 300x	positif	Count	45	1	46
		% within hasil serologi dengan pengenceran 300x	97.8%	2.2%	100.0%
	% of Total	43.3%	1.0%	44.2%	
negatif	Count	7	51	58	
	% within hasil serologi dengan pengenceran 300x	12.1%	87.9%	100.0%	
	% of Total	6.7%	49.0%	55.8%	
Total	Count	52	52	104	
	% within hasil serologi dengan pengenceran 300x	50.0%	50.0%	100.0%	
	% of Total	50.0%	50.0%	100.0%	

Chi-Square Tests

	Value	Exact Sig. (2-sided)
McNemar Test		.070(a)
N of Valid Cases	104	

a. Binomial distribution used.

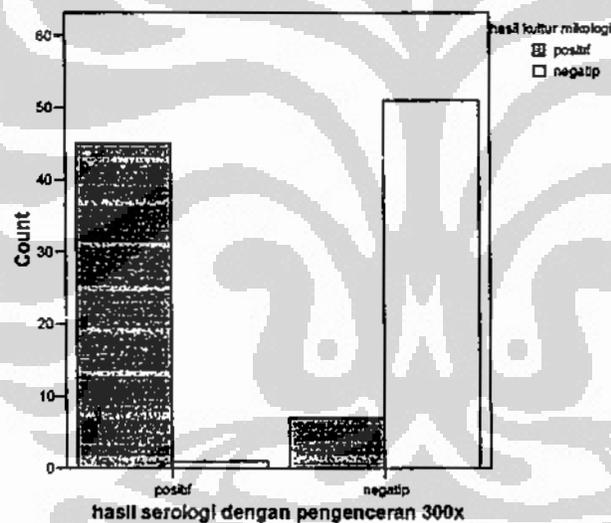
Symmetric Measures

	Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.	
Measure of Agreement	Kappa	.846	.052	8.687	.000
N of Valid Cases	104				

a. Not assuming the null hypothesis.

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

Bar Chart



hasil serologi dengan pengenceran 500x * hasil kultur mikologi

Crosstab

			hasil kultur mikologi		Total
			positif	negatif	
hasil serologi dengan pengenceran 500x	positif	Count	38	0	38
		% within hasil serologi dengan pengenceran 500x	100.0%	.0%	100.0%
		% of Total	34.6%	.0%	34.6%
	negatif	Count	16	52	68
		% within hasil serologi dengan pengenceran 500x	23.5%	76.5%	100.0%
		% of Total	15.4%	50.0%	65.4%
Total		Count	52	52	104
		% within hasil serologi dengan pengenceran 500x	50.0%	50.0%	100.0%
		% of Total	50.0%	50.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	Exact Sig. (2-sided)
McNemar Test		.000(a)
N of Valid Cases	104	

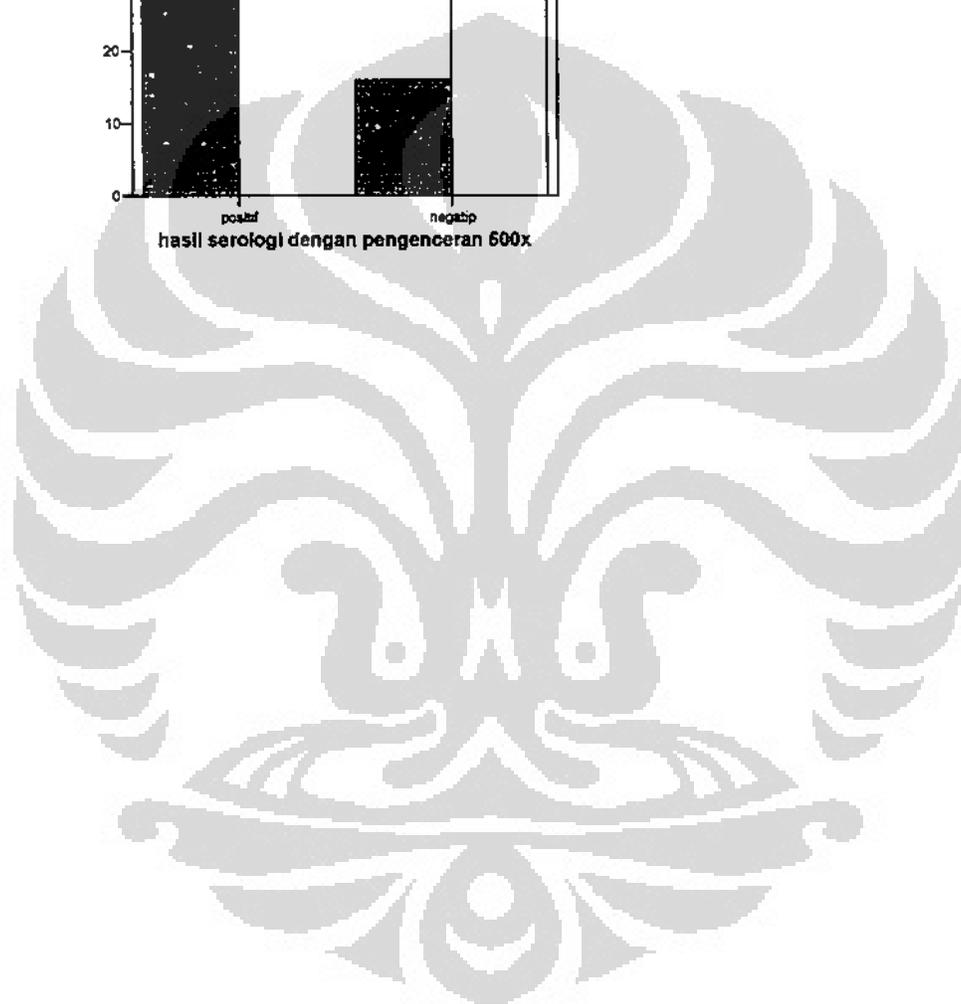
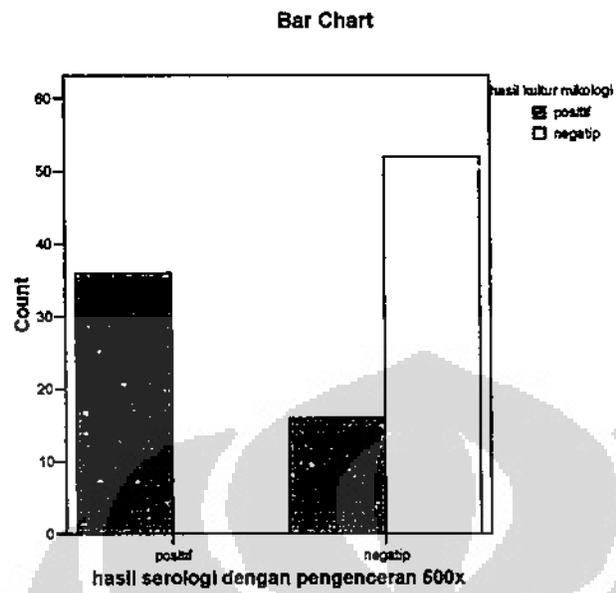
a. Binomial distribution used.

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.692	.067	7.420	.000
N of Valid Cases		104			

a. Not assuming the null hypothesis.

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



Riwayat Hidup



1. Nama Lengkap : Robiatul Adawiyah
2. NPM : 0606000213
3. Jenis Kelamin : Perempuan
4. Agama : Islam
5. Tempat/Tanggal Lahir : Kediri, 3 April 1974
6. Status : Menikah
7. Alamat : Perum. Taman Griya Kencana blok A1 No.2
Tanah Sareal, Bogor
8. Pekerjaan : Staf Pengajar Departemen Parasitologi FKUI
9. Alamat instansi : Jl. Salemba Raya No. 6 Jakarta Pusat
10. No. Hp : 08159710834
11. Alamat Email : adahbari@yahoo.com

12. Riwayat Pendidikan

- Tamat Sekolah Dasar Negeri Sukamulya Kota Bekasi tahun 1986
- Tamat Sekolah Menengah Pertama Negeri 1 Sukatani Bekasi tahun 1989
- Tamat Sekolah Menengah Umum Negeri 1 Bekasi tahun 1992
- Selesai Profesi Dokter dari FK UNS Solo tahun 1999

13. Riwayat Pekerjaan

- Tahun 2000 – 2001 : Dokter Jaga UGD di RS Bhakti Husada Cikarang
Bekasi
- Tahun 2001 – 2004 : Dokter PTT di Puskesmas Jayakarta Kab. Karawang
- Tahun 2004 – 2006 : Dokter di Klinik swasta
- Tahun 2006 – sekarang : Staf Pengajar honorer Departemen Parasitologi di FK UI

14. Karya Ilmiah

- Hubungan antara Karsinoma Kolorektal dengan Usia dan Jenis Kelamin

- Deteksi *Cryptococcus neoformans* pada Pemeriksaan Cairan Otak Penderita HIV/AIDS: Morfologik dan Serologik

15. Oral presentasi di forum Ilmiah

- Dinamika Spesimen Mikologi dalam Kurun Waktu 10 tahun, disampaikan dalam Simposium di Bali, Juni 2007.

20. Sumber dana penelitian tesis

- Komisis Penanggulangan AIDS Nasional
- Dana Riset Mikologi

Jakarta, 19 Desember 2008



(dr. Robiatul Adawiyah)



UNIVERSITAS INDONESIA FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Salemba Raya No. 6 Jakarta Pusat

Pos Box 1358 Jakarta 10430

Kampus Salemba Telp. 31930371, 31930373, 3922977, 3927360, 3912477, 3153236 Fax. : 31930372, 3157288 e-mail : office@fk.ui.ac.id

NOMOR : *316* /PT02.FK/ETIK/2008

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL -- CLEARANCE

Panitia Tetap Penilai Etik Penelitian, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul:
The Committee of The Medical research Ethics of the Faculty of Medicine, University of Indonesia, with regards of the Protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled:

"PENETAPAN NILAI BATAS ANTIGEN GLUCURONOXYLOMANNAN (GXM) PADA PASIEN AIDS DENGAN KRIPTOKOKOSIS MENINGEAL"

Peneliti Utama : dr. ROBIATUL ADAWIYAH
Name of the principal investigator

Nama Institusi : PROGRAM MAGISTER ILMU BIOMEDIK FKUI

dan telah menyetujui protocol tersebut di atas.
and approved the above mentioned proposal.

Jakarta, 8 September 2008



Chairman
Ketua

Prof. Dr. dr. Agus Firmansyah, SpA(K)

-Peneliti wajib menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian.

**Diagnosis Kriptokokosis Meningeal pada Penderita AIDS dengan
Deteksi Antigen *Glucuronoxylomanan* pada Cairan Otak.**

Retno Wahyuningsih,* Robiatul Adawiyah,* Ridhawati Sjam*
Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

Abstrak: Kriptokokosis adalah infeksi yang disebabkan oleh jamur *Cryptococcus* sp. terutama *Cryptococcus neoformans*. Sebelum pandemi AIDS kriptokokosis hanya berupa kasus sporadis, namun meningkat tajam setelah era AIDS, dengan manifestasi klinis terbanyak meningitis. Pemeriksaan mikologi untuk diagnosis kriptokokosis memiliki keterbatasan sensitivitas dan waktu, sehingga diperlukan metode lain untuk diagnosis dini agar pengobatan dapat segera diberikan. Salah satu alternatif pemeriksaan adalah deteksi antigen GXM, yang belum diketahui nilai batasnya. Berdasarkan itu perlu dilakukan penelitian untuk menetapkan nilai batas (*cut off point*) GXM pada pasien AIDS dengan kriptokokosis meningeal. Hasil penelitian diharapkan dapat membantu menegakkan diagnosis kriptokokosis pada pasien AIDS dengan gangguan SSP. Untuk deteksi GXM digunakan teknik aglutinasi lateks, dengan memeriksa cairan otak yang tidak diencerkan, diencerkan 100×, 300×, dan 500×. Baku emas penelitian ini adalah pemeriksaan tinta India dan kultur. Hasil penelitian menunjukkan bahwa laki-laki lebih banyak daripada perempuan dan dari perhitungan Rasio Prevalens, diketahui laki-laki lebih berisiko mendapat kriptokokosis (RP: 1,1). Usia terbanyak terdapat pada rentang 25-30 tahun. Berdasarkan perhitungan *Mc Nemar*, nilai *kappa*, sensitivitas, spesifisitas, Nilai Prediksi Positif dan Nilai Prediksi Negatif disimpulkan bahwa pengenceran 300× merupakan nilai batas uji deteksi GXM untuk menegakkan diagnosis kriptokokosis.

Kata kunci: *Cryptococcus neoformans*, meningitis, diagnosis

Abstract: Cryptococcosis is an infection caused by encapsulated yeast *Cryptococcus neoformans*. Before AIDS pandemy it was rarely reported, but nowadays its prevalence increasing sharply. The most common clinical manifestation in AIDS is meningitis. Mycology investigation for the diagnosis of cryptococcosis is obscure by the limitation of sensitivity and time consuming. It is necessary to use another method as the alternative. GXM antigen is distributed in body fluids such as spinal fluid, serum and urine. The detection of GXM in those body fluids can be used to support the diagnosis of cryptococcosis. The dilution that can be used for the diagnosis of cryptococcal meningitis in Jakarta is not yet known. The method used for GXM detection is latex agglutination test. For the purpose of this study neat, 100, 300 and 500 dilution of spinal fluid were tested. The gold standard of this study is mycology test i.e. india ink examination and culture. The result of Prevalens Ratio (PR) showed male are more prone to infection (RP: 1,1), while the range of the age is 25-30 years old. Based on *Mc Nemar* test, *kappa* value, sensitivity, specificity, negative predictive value and positive predictive value it can be concluded that 300 dilution of spinal fluid is cut off value for the diagnosis of cryptococcal meningitis in AIDS.

Key words: *Cryptococcus neoformans*, meningitis, diagnosis

Pendahuluan

Dalam dekade terakhir insidens pasien terinfeksi HIV meningkat cepat di seluruh dunia termasuk Indonesia pada.¹ Infeksi jamur merupakan infeksi oportunistik yang sering ditemukan pada

penderita HIV, bahkan dapat menjadi penanda AIDS, stadium akhir infeksi HIV. Salah satu infeksi oportunistik yang sering ditemukan pada AIDS adalah kriptokokosis. Kriptokokosis

umumnya disebabkan oleh *Cryptococcus neoformans* termasuk pada penderita AIDS.² Manifestasi klinis terbanyak pada pasien AIDS adalah meningitis. Kriptokokosis meningeal merupakan penyebab kecacatan tertinggi dan kematian terbanyak pada penderita AIDS yang mengalami gangguan susunan saraf pusat.³ Keterlambatan pengobatan akan mengakibatkan kecacatan dan kematian. Berdasarkan hal itu diagnosis dini kriptokokosis meningeal harus secepatnya ditegakkan sehingga pengobatan dapat segera diberikan agar kecacatan dapat dicegah dan angka kematian diturunkan.

Diagnosis pasti kriptokokosis meningeal ditegakkan dengan melakukan pemeriksaan mikologi terhadap cairan otak, yaitu pemeriksaan langsung dengan tinta india dan kultur. Pemeriksaan langsung menguntungkan karena mudah, murah dan hasilnya cepat (kurang lebih 30 menit). Kelemahannya, hasil positif hanya didapat jika jumlah sel jamur dalam cairan otak lebih dari 10^3 - 10^4 sel/ml,⁴ sehingga sensitifitas pemeriksaan tersebut hanya 50%.⁵ Kultur bahan klinik lebih sensitif dibanding pemeriksaan tinta india dengan sensitifitas 70%.⁶ Kelemahan kultur, membutuhkan waktu yang lama untuk pertumbuhan jamur. Dibutuhkan waktu 5-7 hari untuk mengetahui pertumbuhan pada media sabouraud. Koloni yang tumbuh menyerupai koloni *Candida* dan diperlukan pemeriksaan mikroskopis atau biokimiawi untuk memastikan.⁷ sedangkan pasien kriptokokosis meningeal adalah penderita dengan kondisi klinis buruk yang memerlukan pengobatan segera.

Diagnosis kriptokokosis lainnya adalah dengan deteksi antigen *glucuronoxylomannan* (GXM). GXM merupakan faktor virulensi penting yang dilepaskan oleh *Cr. neoformans* dan dapat dideteksi di berbagai cairan tubuh seperti cairan otak, darah, serum dan urin.^{7,8} Dalam kondisi saprofit *Cr. neoformans* juga dapat melepaskan antigen GXM. Hal itu dibuktikan dengan penelitian pendahuluan untuk

deteksi GXM pada 10 orang sehat tanpa gangguan SSP.

Kadar GXM dalam cairan tubuh dipengaruhi pajanan jamur di lingkungan dan faktor geografi.^{9,10} Di Jakarta dan sekitarnya telah terbukti terdapat sumber penularan kriptokokosis.^{9,10} Penelitian deteksi GXM pada orang sehat menemukan bahwa ada orang sehat yang mengandung GXM dalam darahnya.

Pemeriksaan mikologi sebagai penunjang diagnostik kriptokokosis memiliki keterbatasan sensitifitas dan waktu. Oleh karena itu mulai dilakukan pemeriksaan serologi untuk alat penunjang diagnosis kriptokokosis salah satunya yaitu dengan deteksi GXM. Deteksi GXM *Cr. neoformans* dengan metode aglutinasi lateks dapat mendeteksi GXM hingga kadar 10 ng/ml,^{6,11} namun belum memiliki pengenceran yang bersifat diagnostik sehingga ingin diketahui berapakah pengenceran cairan otak pada pemeriksaan antigen GXM yang memiliki sifat diagnostik sehingga dapat digunakan sebagai diagnosis pendukung kriptokokosis meningeal pada pasien AIDS.

Bahan dan Cara Kerja

Penelitian dilakukan di laboratorium Mikologi Departemen Parasitologi FKUI. Sampel adalah cairan otak penderita AIDS dengan gangguan SSP yang sebagian sudah dibuktikan secara mikologi dan disimpan di laboratorium mikologi Departemen Parasitologi FKUI sebanyak 104 sampel.

Pemeriksaan cairan otak

Pemeriksaan *Cryptococcus* dilakukan pada cairan otak, dilakukan dengan dua jenis pemeriksaan yaitu pemeriksaan mikologi dan pemeriksaan deteksi antigen (GXM) *Cr. neoformans*. Pemeriksaan mikologi yaitu pemeriksaan langsung tinta india dan kultur.

Pemeriksaan langsung tinta India

Cairan otak diputar dengan kecepatan 5000-6000 rpm selama 5 menit. Endapan diambil dengan sengkeli steril kemudian diletakkan pada gelas obyek. Satu tetes tinta india diletakkan dekat dengan spesimen, kemudian dicampur hingga rata. Sediaan ditutup dengan kaca penutup, kemudian diperiksa dengan mikroskop obyektif pembesaran 10 dan 40x. Penilaian hasil positif bila terdapat sel ragi bersimpai tunggal maupun berkelompok. Hasil negatif bila tidak ditemukan sel ragi bersimpai dengan latar belakang hitam.

Pemeriksaan Kultur/Biakan

Cairan otak yang sama diambil endapannya dengan sengkeli yang telah disterilkan, kemudian digoreskan pada media ASD dan ABS. Hasil penanaman di inkubasi pada suhu kamar selama 3-10 hari dan diamati tiap hari. Penilaian hasil: Pada media ASD: tumbuh koloni ragi putih kekuningan. Koloni yang tumbuh diperiksa dengan tinta india, untuk memastikan koloni jamur yang tumbuh adalah koloni *Cryptococcus*. Pada media ABS: *Cryptococcus* akan membentuk koloni ragi yang berwarna coklat gelap.

Pemeriksaan deteksi antigen GXM *Cr. neoformans*

Deteksi antigen GXM dilakukan dengan memakai teknik aglutinasi lateks (kit *Pastorex-BIORAD*, kat. 7EM2093, Perancis). Deteksi antigen GXM pada kelompok mikologi negatif dimulai dengan *neat* (tanpa pengenceran) dan dilanjutkan pengenceran 100 \times , 300 \times , 500 \times , hingga didapat hasil negatif untuk seluruh sampel. Dilakukan pengenceran bertahap untuk menetapkan nilai antigen GXM yang dapat menyatakan penderita yang bersangkutan menderita kriptokokosis meskipun pada

pemeriksaan mikologi tidak ditemukan jamur. Deteksi antigen GXM pada kelompok mikologi positif sama seperti perlakuan pada kelompok mikologi negatif.

Neat (tanpa pengenceran):

Dengan menggunakan pipet 120 μ l, bahan klinik dimasukkan dalam tabung eppendorf yang baru. Ditambahkan 20 μ l pronase, kemudian divorteks. Spesimen klinik yang telah ditambah pronase diinkubasi dalam penangas air pada suhu 56°C selama 30 menit, untuk inaktivasi virus HIV yang terdapat pada bahan klinik. Setelah selesai kemudian diangkat dan dimasukkan ke dalam air mendidih selama lima menit. Spesimen diambil dan didiamkan beberapa menit, kemudian vorteks ulang. Diambil 40 μ l spesimen dan diletakkan pada kertas baca. Ditambahkan 1 tetes antibodi monoklonal, kemudian diaduk dengan stik khusus. Digoyang pada *rotating shaker* dengan kecepatan 150 rpm selama 5 menit. Kertas baca diambil dan didiamkan, selanjutnya dibaca dan dilakukan interpretasi.¹²

Pengenceran: sebanyak 4 μ l bahan klinik yang telah mengalami perlakuan ditambah 396 μ l cairan *buffer saline* (BS) untuk mendapatkan pengenceran 100 \times . Untuk pengenceran 300 \times dan 500 \times bahan klinik diambil dari bahan yang sudah mengalami perlakuan dan diencerkan 100 \times . Untuk pengenceran 300 \times , diambil 100 μ l dilusi 100 \times ditambah BS yang tersedia dalam kit 200 μ l (pengenceran 300 \times). Untuk dilusi 500 \times diambil 100 μ l dilusi 100 \times , kemudian ditambahkan BS 400 μ l (dilusi 500 \times). Semuanya dilakukan dalam tabung eppendorf baru. Selanjutnya sampel dapat diperiksa dengan cara yang sama seperti pada neat.

Hasil Penelitian

Karakteristik Subyek

Seluruh subyek penelitian ini adalah penderita AIDS dengan gangguan SSP. Subyek penelitian terdiri atas 84 orang laki-laki dan 20 orang perempuan. Usia subyek penelitian paling muda 17 tahun dan paling tua berusia 62 tahun. Konsentrasi terbanyak pada rentang usia 25-30 tahun yaitu 38 orang diikuti kelompok umur 20-25 tahun yaitu 23 orang, namun tidak diketahui bagaimana cara pasien tersebut mendapat infeksi HIV (Tabel 1). Pasien-pasien tersebut bertempat tinggal di wilayah Jabodetabek (99 orang) dan Bandung (5 orang).

Sebagian sampel cairan otak adalah koleksi laboratorium Mikologi Departemen Parasitologi FKUI. Koleksi tersebut telah menjalani pemeriksaan mikologi dengan hasil positif dan negatif (78 sampel). Sebagian sampel

adalah sampel baru yang memerlukan pembuktian (26 sampel). Untuk sampel baru dilakukan pemeriksaan mikologi. Pemeriksaan mikologi pada 104 pasien memberikan hasil 52 orang mengandung *Cryptococcus* pada cairan otaknya sehingga digolongkan menjadi kelompok mikologi positif (KM+). Sisanya sebanyak 52 orang memberikan hasil negatif sehingga dikelompokkan menjadi kelompok mikologi negatif atau KM(-).

Tabel 1. Sebaran Data Demografik

Karakteristik demografik	Jumlah	%
Jenis kelamin		
Laki-laki	84	80,8
Perempuan	20	19,2
Kelompok umur		
> 40 thn	2	2,5
35 - 40 thn	6	7,4
30 - 35 thn	10	12,4
25 - 30 thn	38	46,9
20 - 25 thn	23	28,4
< 20 thn	2	2,5

Pemeriksaan Mikologi

Pada pemeriksaan langsung dengan tinta India, *Cr. neoformans* tampak sebagai sel ragi berkapsul tebal dengan latar belakang hitam (Gambar 1). Hasil pemeriksaan kultur pada media ASD jamur tumbuh sebagai koloni ragi berwarna putih dengan permukaan licin

(Gambar 2.A) setelah inkubasi selama paling cepat 72 jam dan paling lama 10 hari. Pada media ABS jamur tumbuh sebagai koloni ragi yang berwarna coklat gelap (Gambar 2.B). Pada kedua medium tersebut biasanya jamur tumbuh dalam waktu 3-7.

Pemeriksaan Serologi
 Hasil pemeriksaan deteksi antigen GXM pada KM(+) terlihat pada

Tabel 2. Hasil pemeriksaan deteksi antigen GXM pada 52 spesimen cairan otak untuk KM(-) terlihat pada Tabel 3.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan deteksi antigen GXM pada kelompok mikologi positif

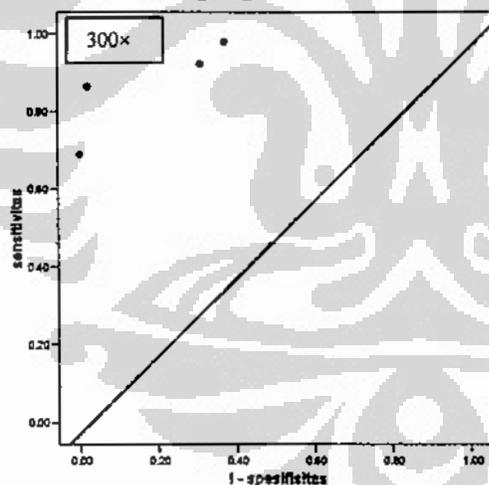
		Cairan Otak			
		Tanpa Pengenceran	Pengenceran 100×	Pengenceran 300×	Pengenceran 500×
Deteksi GXM	Positif	51 (98,1%)	48 (92,3%)	45 (86,5%)	36 (69,2%)
	Negatif	1 (1,9%)	4 (7,7%)	7 (13,5%)	16 (30,8%)
Total		52	52	52	52

Tabel 3. Hasil Pemeriksaan Deteksi Antigen GXM pada Kelompok Mikologi Negatif

		Cairan Otak			
		Tanpa pengenceran	Pengenceran 100×	Pengenceran 300×	Pengenceran 500×
Deteksi GXM	Positif	19 (36,5%)	16 (30,8%)	1 (1,9%)	0 (0%)
	Negatif	33 (63,5%)	36 (69,2%)	51 (98,1%)	52 (100%)
Total		52	52	52	52

Uji *Mc Nemar* pada KM(+) dan KM(-) untuk deteksi GXM pada cairan otak tidak diencerkan dan pemeriksaan mikologi memperlihatkan perbedaan bermakna ($p = 0.000$, $p < 0.05$). Nilai kesepakatan (*measure of agreement = kappa*) yang menunjukkan kesetaraan antara pemeriksaan mikologi dan deteksi GXM tanpa pengenceran adalah 0,612. Sensitivitasnya 98,1%, sedangkan spesifitasnya 63%. Nilai prediksi positif (NPP) pemeriksaan tanpa pengenceran 73% dan nilai prediksi negatif (NPN) 97%. Analisis statistik dengan uji *Mc Nemar* pada KM(+) dan KM(-) dihubungkan dengan deteksi GXM dilusi 100× memperlihatkan perbedaan bermakna ($p = 0,012$, $p < 0,05$). Nilai *kappa* antara pemeriksaan mikologi dan deteksi GXM pengenceran 100× adalah 0,615. Nilai sensitivitasnya 92,3 %, sedangkan spesifitasnya 69,2%. NPP pemeriksaan tersebut adalah 75 % dan NPN nya sebesar 90 %.

Analisis statistik dengan uji *Mc Nemar* pada KM(+) dan KM(-) dihubungkan dengan deteksi GXM pengenceran 300×



Gambar 3. Gambar Kurva ROC Titik Pertemuan Sensitivitas dan 1-spesifitas dari keempat Pemeriksaan Antigen GXM

Pembahasan

Sebelum pandemi AIDS, kriptokokosis merupakan penyakit yang bersifat sporadis dan ditemukan pada pasien dengan penurunan imunitas seperti pasien leukemia, limfoma, sarkoidosis, sirosis, penggunaan kortikosteroid jangka panjang

memberikan hasil tidak terdapat perbedaan bermakna ($p = 0,070$, $p > 0,05$). Nilai *kappa* antara pemeriksaan tersebut adalah 0,846. Sensitivitasnya sebesar 86,5%, sedangkan spesifitasnya 98,1 %. NPP pemeriksaan tersebut adalah 97,8% dan NPN nya sebesar 87,9 %.

Analisis statistik dengan uji *Mc Nemar* pada KM(+) dan KM(-) terhadap deteksi GXM dilusi 500× memperlihatkan adanya perbedaan bermakna ($p = 0.000$, $p < 0.05$). Nilai *kappa* dengan pemeriksaan mikologi 0,692. Nilai sensitivitas pemeriksaan tersebut 69,2%, sedangkan spesifitasnya 100 %. NPP 100% dan NPN pemeriksaan tersebut 76,5 %.

Titik temu sensitivitas dan spesifitas deteksi GXM pada keempat dilusi sampel pada grafik ROC menunjukkan bahwa titik pemeriksaan dengan pengenceran 300× (No.2) terletak paling kiri atas dan merupakan kombinasi terbaik dengan spesivitas 98,1% dan sensitivitas 86,5% (Gambar 3).

serta penderita dengan transplantasi organ.¹³ Setelah terjadi pandemi AIDS prevalensi kriptokokosis meningkat, dan di Jakarta tercatat 21,9%.^{14,15}

Manifestasi klinis yang paling banyak ditemukan pada pasien AIDS adalah meningitis. Kriptokokosis meningeal

merupakan penyebab kecacatan tertinggi pada penderita AIDS yang mengalami gangguan SSP.¹ Selain itu, angka kematiannya cukup tinggi, berkisar antara 13-44%.¹⁶ Berdasarkan hal itu sangat diperlukan diagnosis dini agar pengobatan dapat segera diberikan sehingga angka kecacatan dan kematian dapat diturunkan. Salah satu alternatif dalam upaya menegakkan diagnosis dini adalah deteksi antigen GXM dalam cairan tubuh.

Pada penelitian ini didapatkan usia pasien terbanyak ada pada rentang 25-30 tahun dan diikuti rentang usia 20-25 tahun yang merupakan kelompok usia produktif. Diketahui bahwa di Jakarta pasien terinfeksi HIV umumnya adalah kelompok usia produktif yang mendapatkan HIV karena pemakaian narkotika suntik.⁴⁸ Pada penelitian ini seluruh pasien yang diteliti adalah pasien terinfeksi HIV yang telah memasuki fase AIDS, namun tidak diketahui bagaimana cara mereka mendapatkan infeksi HIV. Hasil perhitungan RP antara umur dan hasil pemeriksaan mikologi menunjukkan bahwa umur bukan merupakan faktor resiko terhadap kejadian kriptokokosis pada penderita AIDS.

Pada pemeriksaan langsung dengan tinta India ditemukan khamir berkapsul tebal, sedangkan pada kultur dengan medium ASD tumbuh koloni khamir dengan permukaan licin dengan warna bervariasi dari putih sampai kekuningan. Pemeriksaan mikroskopis koloni dengan tinta India menemukan khamir berkapsul. Koloni yang tumbuh pada medium ABS adalah koloni khamir yang berwarna coklat tengguli. Secara morfologi *Cryptococcus* dikenal sebagai khamir bersimpai. Selain itu *Cryptococcus* juga membentuk melanin yang dapat dilihat bila jamur ditanam pada media ABS. Pada medium tersebut jamur tumbuh sebagai koloni khamir coklat tengguli yang menunjukkan pembentukan melanin oleh *Cryptococcus*.⁴⁹ Berdasarkan pemeriksaan diatas dapat dipastikan bahwa jamur yang ditemukan dan diisolasi adalah *Cryptococcus*.

Pemeriksaan mikologi pada 104 pasien memberikan hasil 52 orang

mengandung *Cryptococcus* pada cairan otaknya sehingga digolongkan menjadi kelompok mikologi positif (KM+). Sisanya sebanyak 52 orang memberikan hasil negatif atau tidak ditemukan jamur baik pada tinta India maupun kultur sehingga dikelompokkan menjadi kelompok mikologi negatif atau KM- (Tabel 4.2)

Pada penelitian ini dilakukan deteksi antigen GXM pada cairan otak penderita AIDS dengan gangguan SSP. Dilakukan pengenceran bertahap untuk menetapkan nilai antigen GXM yang dapat menyatakan penderita yang bersangkutan menderita kriptokokosis meskipun pada pemeriksaan mikologi tidak ditemukan jamur. Pemeriksaan dilakukan terhadap dua kelompok yaitu kelompok KM(+) dan KM(-).

Deteksi antigen GXM pada cairan otak yang tidak diencerkan, KM(+) mendapatkan hampir seluruh pasien memberikan hasil positif kecuali satu. Hal itu terjadi karena efek *prozone* yaitu karena tingginya kadar antigen sehingga berada diluar ambang deteksi kit yang digunakan.⁴⁴ Hal itu terbukti setelah sampel diencerkan baik dengan pengenceran 100× dan 300× hasilnya menjadi positif. Sementara itu pada pengenceran 500× hasilnya negatif. Agaknya kadar GXM pada sampel tersebut sudah sangat rendah sehingga berada di luar daya deteksi kit ini (Tabel 4.9).

Pengenceran 100× kelompok KM+ jumlah hasil positif menurun menjadi 48 sampel, berarti pada kelompok tersebut terdapat pasien dengan kadar antigen cukup rendah yang hanya dapat terdeteksi pada sampel yang tidak diencerkan. Secara keseluruhan nilai sensitivitas dilusi 100× tinggi yaitu 92,3%, sedangkan spesifisitasnya hanya 69,2%. Sensitivitas menyatakan bahwa dengan pengenceran 100× dapat dideteksi 92,3% pasien menderita kriptokokosis, namun jika ditinjau dari segi spesifisitas, dilusi 100× hanya dapat menyatakan bahwa 69,2% pasien benar-benar negatif artinya tidak menderita kriptokokosis, sisanya mungkin negatif palsu yang terlihat pada pemeriksaan cairan otak tanpa pengenceran. Bila ditinjau dari

nilai NPN pengenceran 100× memiliki daya prediksi negatif 90%, namun bila melihat kesetaraan antara deteksi GXM dan pemeriksaan mikologi yang merupakan baku emas hanya didapat nilai *kappa* 0,615, yang menunjukkan kesetaraan yang rendah. Sehingga pengenceran 100× tidak dapat digunakan untuk menetapkan diagnosis kriptokokosis. Hal itu didukung uji *Mc Nemar* yang memperlihatkan adanya perbedaan bermakna antara pemeriksaan mikologi dan deteksi GXM dengan pengenceran 100×.

Jumlah sampel hasil positif pada KM+ pada pengenceran 300× menurun menjadi 45 sampel, hal itu menunjukkan bahwa pada kelompok tersebut terdapat penderita dengan kadar antigen hanya dapat dideteksi dengan pengenceran 100× dan neat. Nilai sensitivitas dilusi 300× cukup baik yaitu 86,5%, sedangkan spesifisitasnya 98,1%. Ditinjau dari segi sensitivitas, dilusi 300× dapat mendeteksi 86,5% pasien menderita kriptokokosis dan 13,5% tidak terdeteksi. Nilai sensitivitas tinggi menunjukkan kemampuan tinggi untuk mendeteksi penyakit. Nilai spesifisitas menyatakan bahwa pengenceran 300× dapat menyatakan 98,1% sampel benar-benar negatif yang berarti tidak menderita kriptokokosis. Nilai spesifisitas yang tinggi menunjukkan rendahnya hasil negatif semu. Bila ditinjau dari nilai NPP pengenceran 300× memiliki daya prediksi positif 97,8%, hal itu didukung oleh kesetaraan yang tinggi antara pengenceran 300× dan pemeriksaan mikologi (*kappa* = 0,846). Sehingga pengenceran 300× dapat digunakan untuk menetapkan diagnosis kriptokokosis. Uji *Mc Nemar* memperlihatkan tidak ada perbedaan bermakna antara pemeriksaan mikologi dan deteksi GXM, berarti uji tersebut memperkuat hasil analisis yang lain.

Penetapan dilusi 300× sebagai titik potong atau nilai batas penetapan diagnosis kriptokokosis meningeal didukung oleh hasil ROC yang menunjukkan bahwa dilusi 300× menduduki titik potong terbaik antara spesifisitas dan sensitivitas.

Hal yang harus diperhatikan dalam menetapkan dilusi 300× sebagai

pengenceran yang bersifat diagnostik adalah ditemukan tujuh orang dengan pemeriksaan mikologi positif namun deteksi GXM dilusi 300× negatif. Kelompok tersebut masuk dalam area abu-abu yang memang normal ditemukan pada suatu populasi. Sehingga dianjurkan untuk memeriksa ulang GXM bila gejala klinis memang mengarah ke infeksi *Cryptococcus*, meskipun hasil deteksi GXM sebelumnya negatif.

Pada pengenceran 500× KM+ jumlah hasil positif juga menurun menjadi 36 sampel, berarti pada kelompok tersebut terdapat pasien dengan kadar antigen yang hanya dapat dideteksi hingga pengenceran 300×. Secara keseluruhan nilai sensitivitas dilusi 500× cukup rendah yaitu 69,2%, sedangkan spesifisitasnya sangat tinggi 100%. Nilai sensitivitas menyatakan bahwa dengan pengenceran 500× hanya dapat mendeteksi 69,2% pasien menderita kriptokokosis, berarti dilusi 500× menghasilkan positif palsu yang cukup tinggi. Ditinjau dari segi spesifisitas, dilusi 500× dapat menyatakan seluruh pasien benar-benar negatif, karena spesifisitasnya mencapai 100%. Bila ditinjau dari nilai NPP pengenceran 500× memiliki daya prediksi positif 100%, namun tidak didukung oleh kesetaraan dengan hasil pemeriksaan mikologi karena nilai *kappa* yang rendah yaitu 0,692. Selain itu daya prediksi negatif dilusi 500× juga rendah yaitu 76,5%. Rendahnya NPN menunjukkan bahwa peluang pasien untuk tidak sakit dengan hasil pemeriksaan negatif hanya 76,5%, sisanya negatif palsu. Sehingga pengenceran 500× tidak dapat digunakan untuk menetapkan diagnosis kriptokokosis, hal itu didukung uji *Mc Nemar* yang memperlihatkan adanya perbedaan bermakna antara pemeriksaan mikologi dan deteksi GXM tanpa pengenceran.

Keterbatasan penelitian ini adalah, hasil pemeriksaan laboratorium tidak dapat dihubungkan dengan gejala klinik pasien sehingga kadar GXM dalam cairan otak tidak dapat dihubungkan dengan berat-ringannya infeksi. Penelitian ini merupakan penelitian *cross sectional* yang tidak mengikuti perjalanan penyakit, maka bila

didapat hasil negatif dan tidak ada perbaikan klinis serta dibuktikan tidak ada infeksi lain, deteksi GXM sebaiknya diulang.

Kesimpulan

1. Kriptokokosis meningeal pada penderita AIDS lebih banyak ditemukan pada laki-laki. Laki-laki lebih beresiko mendapatkan kriptokokosis meningeal daripada perempuan.
2. Kriptokokosis pada penderita AIDS dengan kriptokokosis meningeal paling banyak ditemukan pada rentang usia 20 -30
- 5.

tahun yang merupakan kelompok usia produktif.

3. Deteksi GXM pada kelompok mikologi positif maupun negatif, memperlihatkan semakin tinggi pengenceran hasil negatifnya semakin banyak.
4. Pengenceran cairan otak untuk deteksi antigen GXM yang dapat membantu menegakkan diagnosis kriptokokosis meningeal pada pasien AIDS dengan gangguan SSP adalah pengenceran 300x.

Daftar Pustaka

1. Kuratatif kasus HIV/ AIDS di Indonesia diunduh dari www.aidsindonesia.or.id, 21 Oktober 2008
2. Dupont B, Pappas PG, Dismukes WE. Fungal Infection among patients with AIDS. In: Dismukes WE, Pappas PG, Sobel JD. Clinical Micology. Oxford: University Press; 2003.p.488-501
3. Subsai K, Kanoksri S, Siwaporn C, Helen L. Neorological complications in AIDS patients: the 1-year retrospective study in Chiang Mai University, Thailand. Eur J Neurol 2004;11:755-9
4. Mitchell TG, Perfect JR. Cryptococcosis in the Era of AIDS-100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans*. Clin Microbiol Rev 1995;8(4):515-48
5. Casadeval A, Perfect R. Diagnosis and laboratory techniques. In: *Cryptococcus neoformans*. Washington: ASM Press;1998. p.381-99
6. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melrick, & Adelberg's Medical Microbiology. A Lange Medicalbook. International edition. 23rd ed. Boston: McGrawHill; 2004: p.647-9
7. Wahyuningsih R, Raeminto, Erwin F, Mulyati. *Cryptococcus neoformans* isolated from pigeon dropping (preliminary report) Maj Kedok Indon 2006;56(8):464-7
8. Susilo J. Isolasi *Cryptococcus neoformans* dari tanah di Jakarta. Maj Kedok Indon 1968;18(6-7): 134-5
9. Levitz SM. The ecology of *Cryptococcus neoformans* and the epidemiology of cryptococcosis. Rev Infect Dis 1991;13:1163-9
10. Buku panduan PASTOREX™ CRYPTO PLUS 61747. Dctction of soluble *Cryptococcus neoformans* antigen in Biological Fluids.
11. Singh N, Lortholory O, Alexander BD, Gupta KL, Pursell K, et al. An immune reconstitution syndrome-like illness associated with *Cryptococcus neoformans* infection in organ transplant recipicnt. Clin Infect Dis 2005; 40: 1756-61
12. Sjam R, Adawiyah R, Mulyati, Wahyuningsih R. Deteksi *Cryptococcus neoformans* pada cairan otak penderita HIV/AIDS: Morfologik dan serologik. Disampaikan pada

- simposium Parasitologi di Bali. Juni 2007
13. Jaiswal SP, Hemwani N, Sharma N, Athale S, Chitnis DS. Prevalence of fungal meningitis among HIV positif and negatif. *Indian J Med Sci* 2002;56(7):325-9
 14. Bicanic T, Harrison TS. Cryptococcal meningitis. *British Medical Bulletin* 2004;72:99-118
 15. Lakshmi V, Sudha T, Teja VD, Urmahala P. Prevalence of central nervous system cryptococcosis in human immunodeficiency virus reactive hospitalized patients. *Indian J Med Microbiol* 2007; 25: 146-149
 16. Micol R, Lortholary O, Sar B, Laureillard D, Ngeth C, Dousset J. *et al.* Prevalence, determinant of positivity, and clinical utility of cryptococcal antigenemia in Cambodian HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndrome* 2007;45(5):555-9
 17. Milogo A, Ki-Zerbo GA, Andonaba JB, Lankoandé D, Sawadogo A, Yaméogo I, *et al.* Cryptococcal meningitis in HIV-infected patients at Bobo-Dioulasso hospital (Burkina Faso). *Bull Soc Pathol Exot* 2004;97(2): 119-21
 18. Mboi N, Smith KII. Current status of HIV/AIDS in Indonesia and prospect for its spread. Dalam: 'Indonesia' fighting a rising tide: the response to AIDS in East Asia. Yamamoto I, Itoh S. editors. Tokyo: Japan centre for international exchange. 2006: 96-118
 19. Ellis D, Davis S, Alexiou H, Handke R, Bartley R. *Description of Medical Fungi*. 2nd ed. 2007
 20. Hamilton JR, Noble A, Denning DW. Performance of cryptococcus antigen latex agglutination kits on serum and cerebrospinal fluid specimens of AIDS patients before and after pronase treatment. *J Clin Microbiol* 1991;29:333-9