

Hubungan Gambaran Bercak-Bercak Gelap (*Dark Specks*) pada Latar Belakang Material Nekrotik Granular Eosinofilik dengan Kadar CD4 Penderita Limfadenitis Tuberkulosis Servikalis yang Disertai HIV/AIDS

Sutoyo Eliandy, M. Nadjib D. Lubis, Delyuzar

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, Medan

ABSTRAK

Latar belakang

Diagnosa limfadenitis TB mudah ditegakkan apabila gambaran-gambaran khas ditemukan pada sediaan aspirasi. Tetapi apabila gambaran ini tidak dijumpai, sulit membedakan antara limfadenitis akut supuratif atau limfadenitis TB supuratif, terutama pada pasien dengan HIV/AIDS. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui hubungan bercak-bercak gelap (*dark specks*) pada latar belakang material nekrotik granular eosinofilik dengan kadar CD4 penderita limfadenitis tuberkulosis servikalis yang disertai HIV/AIDS.

Metoda

Penelitian ini menggunakan *Exact Fisher Test* dengan pemilihan sampel secara *consecutive sampling*.

Hasil

Dari 24 sampel penderita limfadenitis TB yang disertai HIV/AIDS dijumpai 20 orang laki-laki (83,3%) dan perempuan 4 orang (16,7%). Umur penderita seluruhnya pada usia produktif dengan rentang umur 21-49 tahun. Ditemukan gambaran *dark specks* pada 4 sediaan biopsi aspirasi pada kadar CD4 <200. Ada kecenderungan munculnya *dark specks* seiring dengan turunnya immunitas penderita, namun setelah diuji secara statistik tidak ada perbedaan yang signifikan dengan nilai $p > 0,05$.

Kesimpulan

Tidak ada hubungan munculnya *dark specks* dengan kadar CD4 penderita limfadenitis TB yang disertai HIV/AIDS.

Kata-kata : *Dark specks*, Limfadenitis TB, CD4, *Antibody ab905*

ABSTRACT

Objective

Diagnosis of lymphadenitis TB was easy to established when the spesific images was found in the preparat of aspiration. However, if the image was not found in the preparat, it was difficult to distinguish between supuratif acute lymphadenitis and supuratif lymphadenitis TB, primarily for those patients with HIV/AIDS. This research was carried out to determine the relationship of dark speck image at the eosinophil granular necrotic material background with the level of CD4 to the patient lymphadenitis tuberculos cervicalis with HIV/AIDS

Methods

This research was conducted using exact fisher test with the consecutive sampling.

Result

From 24 samples of patient lymphadenitis TB with HIV/AIDS was found 20 patients were male (83,3%) and 4 female patients (16.7). All of the patients were included into the productive age with the range of age from 21-49 years old. It has been found the dark specks image at 4 samples of biopsy aspiration at level of CD4 below than 200. There were the indication, the dark speck image will be appear when the immune system of patients was decrease. However, base on the result of statistical analysis, it was exhibited that there was no significant different ($p > 0.05$) between dark specks image and CD4 level.

Conclusions

There was no relationship appearance of dark speck with the level of CD4 to the patient lymphadenitis TB with HIV/AIDS

Key Words : *Dark specks*, Lymphadenitis TB, CD4, *Antibody ab905*

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) merupakan salah satu penyakit infeksi terbanyak di dunia. *World Health Organization* (WHO) menyatakan bahwa sekitar 1,9 miliar manusia (sepertiga penduduk dunia) telah terinfeksi kuman TB. Di Indonesia TB merupakan masalah utama kesehatan masyarakat. Jumlah penderita TB di Indonesia merupakan ke-3 terbanyak di dunia setelah India dan Cina dengan jumlah sekitar 10% dari total jumlah penderita TB di dunia.

Munculnya pandemi *Human Immunodeficiency Virus* (HIV)/*Acquired Immune-deficiency Syndrome* (AIDS) di dunia menambah permasalahan TB. Koinfeksi TB dengan HIV akan meningkatkan resiko kejadian TB secara signifikan.¹

Limfadenitis TB adalah manifestasi TB di luar paru yang paling banyak ditemukan. Gambaran sitologi TB terdiri dari histiosit epiteloid dengan latar belakang limfosit, *multinucleated giant cells* dari tipe *foreign body* atau tipe *Langhans giant cells* dan bisa pula menunjukkan atau tidak menunjukkan adanya nekrosis.^{2,3}

Pada penderita HIV yang lanjut, *Cluster of Differentiation 4* (CD4) akan berkurang dalam jumlah dan fungsinya. Kerusakan sistem imun pada penderita HIV/AIDS akan menyebabkan tidak aktifnya imunitas seluler.

Diagnosa limfadenitis TB mudah ditegakkan apabila gambaran-gambaran khas tersebut di atas ditemukan pada sediaan aspirasi. Tetapi apabila gambaran ini tidak dijumpai, sulit membedakan antara limfadenitis akut supuratif (gbr.1) atau limfadenitis TB supuratif. Lubis et al, dalam studi diagnostik menemukan adanya gambaran lain dari limfadenitis TB, yaitu adanya bercak-bercak gelap (*dark specks*) pada latar belakang material nekrotik granular eosinofilik dari aspirat limfadenopati (gbr. 2). Dan ternyata apabila sediaan ini dikultur dengan teknik Kudoh, ternyata 83% kasus memberikan kultur positif.⁴

Secara imunohistokimia (IHK), dapat dilakukan pemeriksaan mikobakterial antigen *MPT64* yang dapat mendeteksi keberadaan *M. Tuberculosis* dengan hasil yang lebih pasti dan lebih cepat.⁵⁻⁷ Pewarnaan imunositokimia (ISK) dengan menggunakan *Mycobacterium Tuberculosis Species-Specific* (MTSS) dapat dipakai sebagai diagnostik tambahan limfadenitis TB

dari sediaan *Fine Needle Aspiration Biopsy* (FNAB).⁸

Antibodi spesifik lain yang dapat mengikat antigen *M. Tuberculosis* yang adalah antibodi *ab905*. Dan McWilliam et al, melakukan penelitian dengan menggunakan antibodi ini dan menyimpulkan bahwa *ab905* muncul untuk mengikat antigen manusia pada sinovium yang meradang, dengan hipotesisnya bahwa *ab905* merupakan *heat-shock protein*.⁹

Dalam penelitian ini dilakukan suatu kajian dalam mengamati hubungan antara munculnya dark specks pada sediaan biopsi aspirasi dengan kadar CD4 pada penderita limfadenitis TB yang disertai HIV/AIDS yang diwarnai dengan immunositokimia *ab905*.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Sentra Diagnostik Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara bekerja sama dengan Rumah Sakit Haji Medan, rumah sakit swasta dan laboratorium Patologi Anatomi swasta di Medan, dalam kurun waktu September 2009 sampai Oktober 2010. Penelitian ini dilakukan secara *cross sectional*, dimana pengambilan sampel dilakukan dengan metoda *non random sampling* dengan teknik *consecutive sampling* dengan jumlah sampel sebesar 24 orang.

Data-data hasil pengamatan mikroskopis dari tampilan immunositokimia *ab905* dengan gambaran sitologi berupa gambaran klasik limfadenitis TB yaitu sel epiteloid, *multinucleated giant cells*, limfosi, material nekrotik dan *dark specks* disajikan dalam bentuk tabel dan dideskripsikan. Untuk menganalisa perbedaan tampilan immunositokimia *ab905* antara *dark speck* dan gambaran klasik limfadenitis TB dengan kadar CD4, peneliti menggunakan uji *Exact fisher test*.

Setelah dibuat sediaan hapus dengan menggunakan kaca objek yang telah di *coating* dengan *poly-L-lysine* atau menggunakan *silanized slide* agar sediaan smear dapat melekat pada kaca objek selama proses immunositokimia, kemudian difiksasi dengan methanol absolut selama 30 menit selanjutnya masukkan *slide* kedalam PBS.

Langkah 1 : *Endogenous Enzyme Block*

- Bersihkan preparat dari sisa buffer pencuci dengan menggunakan lap khusus.

- Teteskan *Dual endogenous enzyme block* secukupnya untuk menutupi seluruh spesimen.
- Inkubasi selama 5-10 menit.
- Bilas dengan air distilasi atau solusi buffer tanpa mengenai spesimen langsung.
- Letakkan preparat dalam *bath* buffer yang baru.

Langkah 2 : Reagen antibodi primer atau kontrol negatif

- Bersihkan preparat dari sisa cairan buffer pencuci dengan lap khusus.
- Teteskan antibodi primer (dengan pengenceran 200x) secukupnya menutupi seluruh jaringan.
- Inkubasi selama 30 menit.
- Bilas dengan lembut pada cairan buffer dan tempatkan dalam *bath* buffer yang baru. Jika prosedur pewarnaan ingin di interupsi, slides dapat dibiarkan didalam *bath* buffer selama 1 jam, pada suhu ruangan.

Langkah 3 : *Labeled Polymer*-HRP

- Bersihkan preparat dari sisa cairan buffer seperti di atas.
- Teteskan *labelled polymer* secukupnya sampai menutupi sediaan hapus
- Inkubasi selama 30 menit.
- Bilas dengan lembut pada larutan buffer dan tempatkan dalam *bath* buffer selama 5 menit.

Langkah 4 : Substrat-kromogen

- Lap kering slide preparatnya seperti biasa.
- Teteskan substrat-kromogen secukupnya dan inkubasi selama 5-10 menit.
- Bilas lembut dengan air distilasi.

Langkah 5 : *Counterstain* hematoxylin

- Masukkan slide ke dalam cairan Meyer hematoxylin dan inkubasi seperti biasa.
- Bilas dalam *bath* air distilasi.
- Celupkan slide 10 kali dalam larutan amonia 0,037 mol/L atau *bluing agent* lainnya.
- Bilas slide dalam *bath* air distilasi atau deionisasi selama 2-5 menit.
- Tutup dengan entelan
- Lihat dibawah mikroskop tampilan *MT*

Penelitian ini menggunakan EnVision+ Dual Link system-HRP (DAB+) dari Dako Cytomation, terdiri atas :

- 1 x 15 ml : Dual Endogenous Enzyme Block
- 1 x 15 ml : Labelled Polymer-HRP
- 1 x 18 ml : DAB+ Substrate Buffer
- 1 x 1 ml : DAB+ Chromogen

Penilaian terhadap pulasan imunositokimia *Mycobacterium tuberculosis antibody (ab905)* adalah sebagai berikut :

- Kontrol positif: limfadenitis TB yang telah diketahui positif terhadap *Mycobacterium tuberculosis antibody (ab905)*.
- Kontrol negatif: limfadenitis TB dengan antibodi primer yang digantikan dengan serum normal.
- Positif: warna coklat yang tertampil pada kelompokan makrofag dan massa nekrotik eosinofilik.
- Negatif: tidak berhasil menampilkan warna coklat pada kelompokan makrofag dan massa nekrotik eosinofilik.

HASIL

Penelitian ini menggunakan 24 sampel yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yaitu penderita limfadenitis tuberkulosis yang disertai HIV/AIDS yang dilakukan tindakan biopsi aspirasi jarum halus di Instalasi Patologi Anatomi RSUP H. Adam Malik Medan selama bulan Nopember 2009 hingga September 2010. Tampilan sitologi pada sampel dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Distribusi penderita berdasarkan tampilan sitologi

No	Tampilan Sitologi	Jumlah	Persentase
1	Giant Cells	0	0,0
2	Sel Epiteloid	2	8,3
3	Material Nekrotik	17	70,8
4	Limfosit	24	100,0
5	<i>Dark specks</i>	4	16,7

Tampilan sitologi penderita dengan pewarnaan MGG dapat dilihat pada tabel 4.1. Dari 24 sampel yang diteliti, tidak ada yang menunjukkan gambaran *Giant cells* (0,0%), yang menunjukkan adanya gambaran sel epiteloid dijumpai pada 2 kasus (8,34%), material nekrotik dijumpai pada 17 kasus (70,84%) dan limfosit dijumpai pada seluruh kasus (100,0%). Sedangkan *dark specks* hanya dijumpai pada 4 kasus (16,67%).

Tabel 2. Distribusi penderita berdasarkan tampilan immunositokimia

No	Tampilan Ab905	Jumlah	Persentase
1	Negatif	6	25,0
2	Positif	18	75,0
Jumlah Total		24	100,0

Tampilan immunositokimia dapat dilihat pada tabel 2 di atas, dan ternyata tidak seluruhnya positif. Dijumpai 6 kasus (25,0%) yang tidak bereaksi (negatif) dengan antibodi *ab905* (gambar 3), sedangkan yang positif dijumpai pada 18 kasus (75,0%).

Tabel 3. Hubungan kadar CD4 dengan tampilan sitologi

No	Tampilan Sitologi	Kadar CD4 (sel/mm ³)					
		< 200		201-350		350-500	
		n	%	n	(%)	n	(%)
1	Giant Cells	0	0,0	0	0,0	0	0,0
2	Sel Epiteloid	0	0,0	0	0,0	2	8,3
3	Material Nekrotik	13	54,2	3	12,5	1	7,7
4	Limfosit	1	7,7	1	7,7	22	91,6
5	Dark specks	4	16,7	0	0,0	0	0,0

Berdasarkan tabel 3 di atas yaitu mengenai hubungan kadar CD4 penderita dengan tampilan sitologi dapat dilihat bahwa pada penderita dengan kadar CD4 <200 persentase munculnya *dark specks* sebesar 16,7%, sedangkan penderita dengan kadar CD4 >200 tidak menunjukkan tampilan *dark specks*. Tampilan sitologi dengan munculnya material nekrotik pada penderita dengan CD4 <200 adalah sebesar 54,2%. Sementara tampilan sitologi dengan munculnya limfosit pada penderita dengan kadar CD4 >200 adalah sebesar 91,6%.

Tabel 4. Hubungan kadar CD4 dengan tampilan immunositokimia

No	Tampilan Ab905	Kadar CD4 (Sel/mm ³)						Jumlah
		<200		200-300		301-400		
		n	%	n	%	n	%	
1	Negatif	3	12,5	2	8,3	1	4,2	6
2	Positif	15	62,5	2	8,3	1	4,2	18
Jumlah		18	75,0	4	16,7	2	8,3	24

Berdasarkan hasil yang didapatkan pada tabel 4 di atas yaitu hubungan kadar CD4 dengan tampilan immunositokimia *ab905*, menunjukkan bahwa penderita yang mempunyai kadar CD4 <200 memberikan reaksi negatif pada

tampilan immunositokimia *ab905* dengan persentase sebesar 12,5%, angka ini lebih besar jika dibandingkan penderita dengan kadar CD4 200-350 sebesar 8,3%, kadar CD4 351-400 sebesar 4,2%. Penderita dengan kadar CD4 <200 memberikan reaksi positif pada tampilan immunositokimia *ab905* dengan persentase sebesar 62,5%, sedangkan bagi penderita dengan kadar CD4 200-350 sebesar 8,3%, dan kadar CD4 351-400 sebesar 4,2%.

Tabel 5. Hubungan tampilan *dark specks* dengan kadar CD

No	Dark Specks	Kadar CD4 (sel/mm ³)				p
		<200		≥ 200		
		n	%	n	%	
1	Tidak ada	14	58,3	6	25,0	0,539*
2	Ada	4	16,7	0	0,0	

Keterangan: Uji Exact Fisher
*Tidak signifikan

Berdasarkan hasil yang didapatkan mengenai hubungan tampilan *dark specks* dengan kadar CD4 penderita (tabel 5) secara statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara tampilan *dark specks* dengan kadar CD4, dengan nilai $p > 0,05$.

Tabel 6. Hubungan tampilan immunositokimia dengan kadar CD4

No	Immunositokimia <i>ab905</i>	Kadar CD4 (sel/mm ³)				p
		<200		≥ 200		
		n	%	n	%	
1	Negatif	3	12,5	3	12,5	1,39*
2	Positif	15	62,5	3	12,5	

Keterangan: Uji Exact Fisher
*Tidak signifikan

Berdasarkan tabel 6 di atas mengenai hubungan antara tampilan immunositokimia *ab905* dengan kadar CD4 penderita, setelah diuji secara statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara kadar CD4 dan tampilan immunositokimia *ab905*, dengan nilai $p > 0,05$.

Tabel 7. Hubungan tampilan immunositokimia dengan tampilan sitologi

No	Tampilan Ab905	Tampilan Sitologi								D. Specks				p
		Kat-1		Kat-2		Kat-3		Kat-4		Positif		Negatif		
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
1	Positif	0	0	2	11,1	12	66,7	3	16,7	4	100	0	0	0,55*
2	Negatif	0	0	1	5,6	5	27,7	1	5,6	0	0	0	0	

Keterangan: Uji Exact Fisher; *Tidak signifikan

Keterangan:

Kategori-1: Giant Cell, Epiteloid, Nekrotik, Limfosit

Kategori-2: Epiteloid, Nekrotik, Limfosit

Kategori-3: Nekrotik, Limfosit

Kategori-4: Limfosit

Tabel 7 di atas menunjukkan hubungan tampilan immunositokimia *ab905* dengan tampilan sitologi termasuk munculnya *dark specks*. Setelah diuji secara statistik ternyata tampilan sitologi tidak berbeda secara signifikan dengan tampilan immunositokimia *ab905*, dengan nilai $p > 0,05$.

DISKUSI

Dari penelitian ini didapati prevalensi jenis kelamin laki-laki dibandingkan perempuan adalah 5:1 (tabel 4.1). Prevalensi jenis kelamin penderita limfadenitis TB yang disertai HIV/AIDS dalam penelitian ini berbeda dengan prevalensi jenis kelamin pada penderita limfadenitis TB non-HIV/AIDS pada penelitian yang dilakukan di India dimana dijumpai prevalensi jenis kelamin adalah 1,3:1.¹⁰

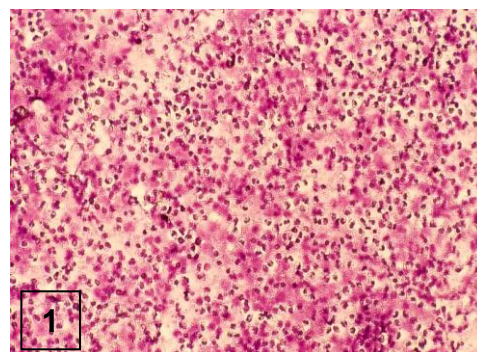
Dari penelitian-penelitian sebelumnya, diketahui bahwa penderita limfadenitis TB kebanyakan dijumpai pada penderita usia produktif. Penelitian di Amerika Serikat menemukan kelompok usia terbanyak adalah 25-50 tahun, sedangkan di India ditemukan pada usia jauh lebih muda yaitu 11-20 tahun.¹⁰ Usia penderita limfadenitis TB yang disertai HIV/AIDS pada penelitian ini seluruhnya pada kelompok usia produktif dengan rentang usia 21-49 tahun.

Adanya kecenderungan tidak munculnya gambaran klasik sitologi limfadenitis TB seiring dengan penurunan imunitas penderita yang ditunjukkan dengan rendahnya kadar CD4. Tampilan sitologi menunjukkan adanya material nekrotik dijumpai sebanyak 17 kasus (13 kasus pada kadar CD4 <200, 3 kasus pada kadar CD4 200-350, 1 kasus pada kadar CD4 301-350), dan hanya dijumpai 2 kasus yang menunjukkan gambaran sel epiteloid yang keduanya pada penderita dengan kadar CD4 351-500, serta dijumpai limfosit pada seluruh sampel dan tidak dijumpai *giant cells* pada seluruh sampel.

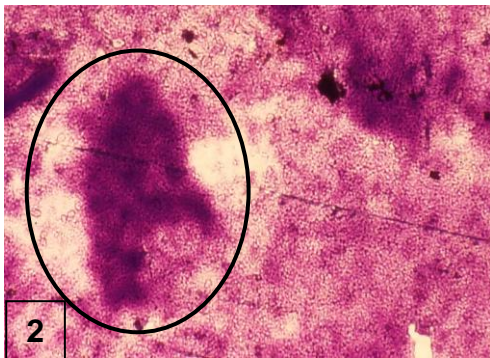
Pada penelitian ini ditemukan gambaran *dark speck* pada 4 sampel yang semuanya pada penderita dengan kadar CD4 yang rendah (stadium AIDS dengan kadar CD4 <200). Dengan demikian ditemukan adanya kecenderungan munculnya *dark speck* berhubungan dengan rendahnya kadar CD4 penderita, walaupun setelah diuji secara statistik tidak ada perbedaan bermakna antara munculnya *dark speck* dengan kadar CD4 dengan nilai $p > 0,05$.

Bila dihubungkan tampilan immunositokimia *ab095* dengan munculnya gambaran *dark specks* dapat dilihat bahwa pada *dark specks* seluruhnya (100%) menunjukkan reaksi positif dengan pewarnaan immunositokimia *ab905* (gambar 4). Dengan demikian munculnya *dark speck* dapat dipastikan merupakan infeksi *M. Tuberculosis* dengan ditemukannya antigen *M. Tuberculosis* tersebut di dalamnya. Kami menduga *Dark specks* merupakan protein antigen *M. Tuberculosis* yang pecah dan terlepas dari makrofag yang menelan *M. Tuberculosis*.

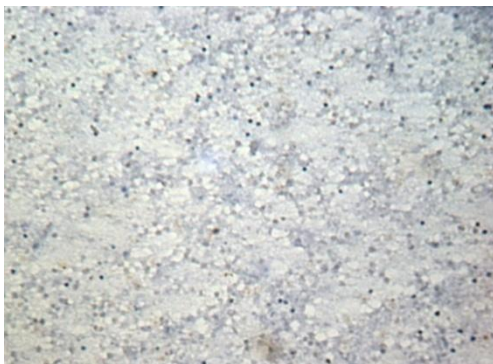
Tidak terbukti adanya hubungan munculnya *dark specks* dengan kadar CD4 yang rendah secara statistik (tabel 4,5) dan dijumpainya 6 kasus yang negatif dengan pewarnaan immunositokimia *ab905* (tabel 4.6), kemungkinan disebabkan masih kurang banyaknya sampel dan membuktikan masih ada sampel yang sebenarnya bukan merupakan kasus limfadenitis TB yang seharusnya dikeluarkan dari penelitian ini



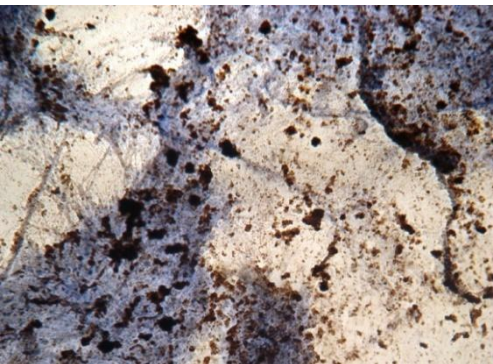
Gambar 1. Abses dengan massa nekrotik dan sel radang PMN tanpa dark speks (MGG, x400).



Gambar 2. Bercak-bercak gelap (*dark Specks*) pada latar belakang material Nekrotik granulat eosinofilik (MGG, x400)



Gambar 3. Tampilan negatif dengan pewarnaan immunositokimia *ab905*



Gambar 4. Tampilan positif dengan pewarnaan immunositokimia *ab905* yang dengan pewarnaan MGG tampak sebagai *dark specks*

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa adanya kecenderungan munculnya dark specks sejalan dengan turunnya immunitas penderita. Walaupun demikian setelah diuji secara statistik dengan menggunakan *Exact Fisher Test*

hubungan tersebut tidak bermakna. Dengan demikian hipo-tesa nol dalam penelitian ini diterima. Artinya tidak ada hubungan munculnya bercak-bercak gelap (*dark specks*) pada latar belakang material nekrotik granular eosinofilik dengan kadar CD4 pada penderita limfadenitis tuberkulosis yang disertai HIV/AIDS.

SARAN

Diperlukan penelitian lanjutan dengan populasi yang lebih luas dengan jumlah sampel penelitian yang lebih banyak.

DAFTAR PUSTAKA

1. Pedoman Nasional Penanggulangan Tuberkulosis. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta; Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2006(2).
2. Koss LG, Melamed MR. Granulomatous lymphadenitis. In: Koss' Diagnostic Cytology and Its Histopathologic Bases. Philadelphia; Lippincott Williams & Wilkins.2006;p:1193-7.
3. Orell SR, Sterett FG, Whitaker D. Granulomatous lymphadenitis. In: Fine Needle Aspiration Cytology. USA; Elsevier Saunders. 2005; p: 93-5.
4. Lubis MND, Lubis HML, Lisdine, Hastuti NW. Dark specks and eosinophilic granular necrotic material as differentiating factors between tuberculous and nontuberculous abscesses. Dalam: Majalah Patologi Indonesia. Jakarta; Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia.2008;17:49-52.
5. Purohit MR, Mustafa T, Wiker HG, Mørkve O, Sviland L. Immunohistochemical diagnosis of abdominal and lymph node tuberculosis by detecting Mycobacterium tuberculosis complex specific antigen MPT64. 2007 [cited on 2009, September 27]. Available download from: <http://www.diagnosticpathology.org/>
6. Mustafa T, Wiker HG, Mfinanga SG, Mørkve O, Sviland L. Immunohistochemistry using a Mycobacterium tuberculosis complex specific antibody for improved diagnosis of tuberculosis lymphadenitis. Modern Pathology.2006, December; 19(12). 2006 [cited on 2009, September 27]. Available download from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16980944>
7. MPT64. 2008 [cited on 2009, October 12]. Available download from: <http://www.e-immunochemistry.info/web/mpt64.htm>

Hubungan Gambaran Bercak-bercak Gelap (Dark Speck) pada
Sutoyo Eliandy, M. Nadjib D. Lubis, Delyuzar

8. Mycobacterium tuberculosis. 2006 [cited on 2009, September 12]. Available download from: <http://www.pathmicro.med.sc.edu/infectious Disease>
9. Datasheet Mycobacterium tuberculosis antibody (ab905), Abcam.
10. Harnoko K, Nawas A. Limfadenitis tuberculosis servikalis. Perhimpunan Dokter Paru Indonesia. Dalam: Jurnal Respirologi Indonesia. Jakarta; Balai Penerbit FK UI. 2005;25:192-97