Real time polymerase chain reaction assay (RT-PCR) sebagai tes cepat mycobacterium tuberculosis dari sampel dahak pasien tuberculosis

Visensius Krisdianilo*, Vincentia Ade Rizky, Sa'adah Siregar, Asvia Rahayu

Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam
Korespondensi Penulis: Visensius Krisdianilo. *E-mail: chrizdianilo@gmail.com

Abstract

Background: Mycobacterium tuberculosis is known as a highly pathogenic bacterium. These bacteria are aerobic in shape like rods and have resistance to acids. This bacteria can cause tuberculosis (TB). TB disease has been widely recognized as a cause of death which is quite high in the world. Tuberculosis causes the death of nearly one million women each year. Currently, no country in the world is free from tuberculosis. Data shows that Indonesia is the third largest contributor of tuberculosis cases in the world. Examination of mycobacterium tuberculosis bacteria which is routinely carried out in hospitals or health centers uses microscopic diagnosis of acid-resistant bacilli (BTA). Recently, a rapid test of Mycobacterium tuberculosis was carried out using the semi-quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction Assay (RT-PCR) method which targets the rpoB gene in Mycobacterium tuberculosis, which can automatically process preparations by extracting doxyribo nucleic acid (DNA) in a cartridge. The time needed for this diagnosis is approximately two hours until the results come out.
Purpose: To see the results of the rapid test compared to the microscopic diagnosis at the Puskesmas.
Method: Using the cross-sectional method, with a sample of 25 patients at the Lubuk Pakam Health Center. To detect Mycobacterium tuberculosis using the GeneXpert MTB/RIF tool. Furthermore, the data obtained was processed and examined using the Wilcoxon statistical test.
Results: The value of the statistical test results using the Wilcoxon test showed that the p-value (Sig) was 0.264, the value was > 0.05, which means that in this study there were no significant differences in results between the microscopic method and RT-PCR.
Conclusion: Overall there was no significant difference in the results between microscopy and RT-PCR methods.

Keywords: Tuberculosis; Mycobacterium Tuberculosis; RT-PCR

Pendahuluan: Mycobacterium tuberculosis dikenal sebagai bakteri yang sangat patogen. Bakteri ini berbentuk aerobik seperti batang dan memiliki ketahanan terhadap asam. Bakteri ini dapat menyebabkan tuberkulosis (TB). Penyakit TBC telah dikenal luas sebagai penyebab kematian yang cukup tinggi di dunia. Tuberkulosis menyebabkan kematian hampir satu juta wanita setiap tahun. Saat ini tidak ada satu negara pun di dunia yang bebas dari tuberkulosis. Data menunjukkan bahwa Indonesia merupakan penyumbang kasus tuberkulosis terbesar ketiga di dunia. Pemeriksaan bakteri mycobacterium tuberculosis yang rutin dilakukan di rumah sakit atau puskesmas menggunakan diagnosis mikroskopis acid-resistant basil (BTA). Baru-baru ini telah dilakukan uji cepat Mycobacterium tuberculosis menggunakan metode semi kuantitatif Real Time Polymerase Chain Reaction Assay (RT-PCR) yang menargetkan gen rpoB pada Mycobacterium tuberculosis, yang secara otomatis dapat memproses preparat dengan ekstraksi asam nukleat doxyribo (DNA) pada catridge. Waktu yang dibutuhkan dalam diagnosis ini adalah kurang lebih dua jam sampai hasilnya keluar.
Tujuan: Untuk melihat hasil rapid test tersebut dibandingkan dengan diagnosis mikroskopis pada Puskesmas.
Metode: Menggunakan metode cross sectional, dengan sampel yaitu pasien Puskesmas Lubuk Pakam sebanyak 25 orang. Untuk mendeteksi Mycobacterium tuberculosis menggunakan alat GeneXpert MTB/RIF. Selanjutnya data yang didapat di olah dan diperiksa dengan menggunakan uji statistic Wilcoxon.
Hasil: Nilai hasil uji statistic menggunakan uji Wilcoxon didapatkan hasil p-value (Sig) adalah 0.264 nilai tersebut > dari 0.05 yang berarti pada penelitian ini hasilnya tidak terdapat perbedaan hasil yang signifikan antara metode mikroskopis dengan RT-PCR.
Simpulan: Secara keseluruhan tidak ada perbedaan yang signifikan dalam hasil antara metode mikroskopis dan RT-PCR.

Kata Kunci: Tuberculosis; Mycobacterium Tuberculosis; RT-PCR

Real time polymerase chain reaction assay (RT-PCR) sebagai tes cepat mycobacterium tuberculosis dari sampel dahak pasien tuberculosis

PENDAHULUAN

Mycobacterium tuberculosis dikenal sebagai bakteri yang sangat pathogen. Bakteri ini bersifat aerob dengan bentuk seperti batang dan memiliki ketahanan terhadap asam (Ginting & Krisdianilo, 2021). Bakteri tersebut dapat menimbulkan penyakit tuberkulosis (TB). Penyakit TB telah banyak dikenal sebagai penyebab kematian yang cukup tinggi didunia (Sari, 2018).

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* yang telah menginfeksi hampir sepertiga penduduk dunia dan merupakan penyebab kematian kesembilan di dunia (Sutriyawan, Nofianti, & Halim, 2022). Pada tahun 2016 terdapat 10,4 juta kasus TB, 90% kasus terjadi pada orang dewasa, 65% terjadi pada laki-laki, dan 10% dengan kasus TB-HIV (World Health Organization, 2013).

Di Indonesia pada tahun 2016 ditemukan jumlah kasus baru TB paru BTA positif sebanyak 156.723 kasus, dengan kasus terbanyak pada laki-laki sebanyak 61%, dan kasus terbanyak terjadi pada kelompok umur 45-54 tahun sebanyak 19,82%. Jumlah kasus tertinggi yang dilaporkan terdapat di provinsi Jawa Barat dengan jumlah kasus baru TB BTA positif sebanyak 23.774 kasus (Banowati, Parwati, Sukandar, Alisjahbana, & Banowati, 016). Sedangkan angka keberhasilan pengobatan TB nya sebanyak 74,5%, sedangkan di Jawa Barat sebanyak 64,3%. Pada tahun 2018 kasus tuberkulosis tertinggi pertama terdapat di Provinsi Jawa barat dengan jumlah kasus sebanyak 99.398 kasus, Jawa Tengah 67.063 kasus dan di Jawa Timur 56.445 kasus. CDR (*case detection rate*) Jawa Barat 77,7%, CNR (Case Notification Rate) Jawa Barat 204 per 100.000 penduduk (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2019).

Selain dari diagnosis mikroskopis ada juga metode lain yang juga sangat efektif yaitu Polymerase Chain Reaction (PCR), teknik ini memiliki sensitivitas tinggi, proses pada pemeriksaan PCR yaitu dengan cara amplifikasi DNA dan juga memerlukan DNA cetakan untaian ganda yang memiliki DNA target sebagai pembanding. Kelemahan dari metode ini adalah proses amplifikasi DNA yang cukup lama sehingga hasil juga dikeluarkan cukup lama (Wulandari, Rodja, Urjiyah, Fibriani, & Putri, 2021).

Akhir-akhir ini terdapat tes cepat Mycobacterium tuberculosis menggunakan metode Real Time Polymerase Chain Reaction Assay (RT-PCR) semi kuantitatif yang menargetkan gen rpoB pada Mycobacterium tuberculosis, yang secara otomatis dapat mengolah sediaaan dengan ekstraksi doxyribo nucleic acid (DNA) dalam catridge. Waktu yang diperlukan dalam diagnosis ini kurang lebih sekitar dua jam sampai keluar hasil (Kurniawan, Raveinal, Fauzar, & Arsyad, 2016).

Metode Real Time Polymerase Chain Reaction Assay (RT-PCR) menggunakan alat GeneXpert MTB/RIF sebagai test cepat ini dapat dikembangkan akan tetapi masih perlu melihat kualitas hasil yang didapat, sehingga peneliti tertarik untuk melihat hasil test cepat tersebut yang dibandingkan dengan diagnosis secara mikroskopis di puskesmas.

METODE

Pada penelitian ini metode yang digunakan adalah cross sectional, dengan pasien yang terlebih dahulu mengisi lambar persetuajuan mengikuti penelitian. Sampel yang digunakan pada panelitian ini adalah pasien Puskesmas Lubuk Pakam sebanyak 25 orang, sampel tersebut didapat dari pasien yang setuju mengisi lembar persetujuan penelitian dan juga memberikan sampel dahak yang volumenya memenuhi kriteria.

Diagnosis yang digunakan untuk mendeteksi Mycobacterium tuberculosis yaitu secara mikroskopis basil tahan asam (BTA) dan untuk diagnosis cepat Real Time Polymerase Chain Reaction Assay (RT-PCR) menggunakan alat GeneXpert MTB/RIF. Selanjutnya data yang didapat di olah dan diperiksa dengan menggunakan uji statistic Wilcoxon.

Visensius Krisdianilo*, Vincentia Ade Rizky, Sa'adah Siregar, Asvia Rahayu

Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam
Korespondensi Penulis: Visensius Krisdianilo. *E-mail: chrizdianilo@gmail.com

HASIL

Tabel 1. Karakteristik Responden (N=25)

Variabel	Hasil
Usia (Mean±SD)(Rentang)(Tahun)	(34.00±7.63)(18-60)
Jenis Keamin (n/%)	
Laki-laki	16/64
Perempuan	9/36
Pemeriksaan Mikroskopis BTA (n/%)	17/68
Positif	8/32
Negatif	
Pemeriksaan RT-PCR (n/%)	20/80
Positif	5/20
Negatif	
Uji Statistic Wilcoxon	-0.224
Z	0.264
Sig.	

Dari hasil pemeriksaan didapatkan jumlah keseluruhan sampel adalah 25 dengan dengan distribusi jumlah laki-laki 16 (64%) serta perempuan 9 (36%), untuk rata-rata umur dari keseluruhan sampel adalah 34 tahun. Adapaun hasil pemeriksaan Mycobacterium tuberculosis menggunakan mikroskopis BTA didapatkan hasil positif berjumlah 17 (68%) sedangkan hasil deteksi dengan RT-PCR didapatkan 20 (80%) hasil positif. Nilai hasil uji statistic menggunakan uji Wilcoxon didapatkan hasil p-value (Sig) adalah 0.264 nilai tersebut > dari 0.05 yang berarti pada penelitian ini hasilnya tidak terdapat perbedaan hasil yang signifikan antara metode mikroskopis dengan RT-PCR.

PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan Mycobacterium tuberculosis menggunakan mikroskopis BTA didapatkan hasil positif berjumlah 17 orang sedangkan hasil deteksi dengan RT-PCR didapatkan 20 hasil positif. Deteksi kuman TBC dengan teknik RT-PCR mempunyai sensitivitas yang amat tinggi. RT-PCR merupakan cara amplifikasi DNA, dalam hal ini DNA Mycobacterium tuberculosis, secara in vitro.

Deteksi Mycobacterium tuberculosis dilakukan dengan teknik RT-PCR, mengingat akurasinya yang baik dan membutuhkan waktu pemeriksaan lebih singkat (Saktiawati, 2021). Hasil negatif pemeriksaan BTA secara mikroskopik sebaiknya dilanjutkan dengan teknik RT-PCR guna menghindari salah diagnosis. Deteksi Mycobacterium tuberculosis, baik dengan teknik RT-PCR maupun dengan kultur bakteri secara statistik berbeda bermakna dari deteksi BTA secara mikroskopik (Anwari, Mega, & Farida, 2020).

Hasil pemeriksaan mikroskopis BTA memiliki sensitivitas tinggi dalam menunjang diagnosis tuberculosis, hasil BTA yang negative dalam pemeriksaan mikroskopis baiknya diperiksa lanjutan dengan PCR guna menghindari salah diagnosis. Mycobacterium tuberculosis dalam sputum sering tidak terdeteksi sebagai BTA secara mikroskopik (Ramadhan, Fitria, & Rosdiana. 2017). Nilai spesifisitas yang tinggi pada pemriksaan RT-PCR menjadi alasan bahwa pemeriksaan mikroskopis BTA masih merupakan metode yang paling baik untuk membantu penegakan diagnosis tuberkulosis secara laboratorium (Khariri, 2020; Mayopu, de Fretes, & Tauho, 2022).

Nilai sensitivitas pemeriksaan mikroskopis BTA pada penelitian ini relatif rendah karena untuk mendapatkan nilai pemeriksaan mikroskopis BTA positif dibutuhkan adanya bakteri sebanyak 5000 – 10.000 bakteri/ ml sputum[16].

SIMPULAN

Hasil pemeriksaan RT-PCR sangat spesifik dalam mendeteksi Mycobacterium tuberculosis. Terdapat beberapa hasil yang tidak terdeteksi

Visensius Krisdianilo*, Vincentia Ade Rizky, Sa'adah Siregar, Asvia Rahayu

Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam
Korespondensi Penulis: Visensius Krisdianilo. *E-mail: chrizdianilo@gmail.com

dengan pemeriksaan mikroskopis (BTA) dapat dideteksi dengan teknik RT-PCR. Akan tetapi secara keseluruhan tidak terdapat perbedaan hasil yang signifikan antara metode mikroskopis dengan RT-PCR.

SARAN

Disarankan kepada Puskesmas untuk melakukan pemeriksaan bakteri tuberculosis menggunakan RT-PCR.

DAFTAR PUSTAKA

Anwari, F., Mega, A., & Farida, E. A. (2020, December). Pola Kepekaan Kuman Terhadap Antibiotika di Rumah Sakit Anwar Medika Sidoarjo. In *Prosiding Seminar Nasional Kesehatan DIII Teknologi Laboratorium Medis* (Vol. 1, No. 1, pp. 1-8). STIKES RS Anwar Medika.

Banowati, M., Parwati, I., Sukandar, H., Alisjahbana, B., & Banowati, M. (2016). Faktor intrinsik yang berhubungan dengan keberhasilan pengobatan tb paru. *The Indonesian Journal of Infectious Diseases*, *4*(2), 1-14.

Ginting, S. S., & Krisdianilo, V. (2021). Seminar pemeriksaan dengan metode real time polymerase chain reaction assay (RT-PCR) sebagai tes cepat mycobacterium tuberculosis dari sampel dahak pasien tuberculosis Di Puskesmas Lubuk Pakam. *Jurnal pengmas kestra (JPK)*, *1*(2), 241-245.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2019). *Profil kesehatan Indonesia tahun 2018*. Kementerian Kesehatan RI.

Khariri, K. (2020, October). Pemeriksaan Basil Tahan Asam (BTA) pada Sputum dengan Metode Pewarnaan Ziehl Neelsen (ZN) untuk Diagnosis TB Paru. In *Prosiding Seminar Nasional Sinergitas Multidisiplin Ilmu Pengetahuan dan Teknologi* (Vol. 3, pp. 132-139).

Kurniawan, E., Raveinal, R., Fauzar, F., & Arsyad, Z. (2016). Nilai diagnostik metode "Real Time" PCR geneXpert pada TB Paru BTA negatif. *Jurnal Kesehatan Andalas*, *5*(3).

Mayopu, B. E., de Fretes, F., & Tauho, K. D. (2022). Analisis Program Pengendalian Tuberkulosis dengan Strategi DOTS di Puskesmas Manutapen Kupang. *Jurnal Epidemiologi Kesehatan Komunitas*, *7*(2), 482-489.

Ramadhan, R., Fitria, E., & Rosdiana, R. (2017). Deteksi mycobacterium tuberculosis dengan pemeriksaan mikroskopis dan teknik pcr pada penderita tuberkulosis paru di puskesmas darul imarah. *Sel Jurnal Penelitian Kesehatan*, *4*(2), 73-80.

Saktiawati, A. M. I. (2021). *Diagnosis dan terapi tuberkulosis secara inhalasi*. UGM Press.

Salim, A. A. N. F., Latief, S., Syahruddin, F. I., Wiriansya, E. P., & Meliyana, A. (2023). Hubungan Antara Luas Lesi Foto Thorax Tuberkulosis Paru Dengan Hasil Sputum BTA. *Fakumi Medical Journal: Jurnal Mahasiswa Kedokteran*, *3*(5), 381-392.

Sari, R. P. (2018). Faktor-faktor yang Berhubungan dengan Kejadian Penyakit TB Paru di Wilayah Kerja Puskesmas Walantaka. *Jurnal Ilmu Kesehatan Masyarakat*, *7*(01), 25-32.

Sutriyawan, A., Nofianti, N., & Halim, R. (2022). Faktor Yang Berhubungan dengan Kejadian Tuberkulosis Paru. *Jurnal Ilmiah Kesehatan (JIKA)*, *4*(1), 98-105.

World Health Organization. (2013). *Global tuberculosis report 2013*. World Health Organization.

Wulandari, K. K., Rodja, H. A., Urjiyah, U. G., Fibriani, E., & Putri, F. A. (2021). Teknik Diagnostik Konvensial Dan Lanjutan Untuk Infeksi Bakteri Dan Resistensi Antibakteri Di Indonesia. *Jurnal Widya Biologi*, *12*(02), 98-116.

Visensius Krisdianilo*, Vincentia Ade Rizky, Sa'adah Siregar, Asvia Rahayu

Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam
Korespondensi Penulis: Visensius Krisdianilo. *E-mail: chrizdianilo@gmail.com

LAMPIRAN

Hasil Pemeriksaan Mikroskopis BTA dan Hasil RT-PCR

Sampel	Hasil mikroskopis BTA	Hasil RT-PCR
STB1	(+)	(+)
STB2	(-)	(+)
STB3	(+)	(+)
STB4	(-)	(-)
STB5	(+)	(+)
STB6	(+)	(+)
STB7	(-)	(-)
STB8	(+)	(+)
STB9	(+)	(+)
STB10	(+)	(+)
STB11	(+)	(+)
STB12	(+)	(+)
STB13	(-)	(+)
STB14	(+)	(+)
STB15	(+)	(+)
STB16	(+)	(+)
STB17	(+)	(+)
STB18	(+)	(+)
STB19	(-)	(-)
STB20	(-)	(+)
STB21	(+)	(+)
STB22	(-)	(-)
STB23	(-)	(-)
STB24		
STB25		

Visensius Krisdianilo*, Vincentia Ade Rizky, Sa'adah Siregar, Asvia Rahayu

Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam
Korespondensi Penulis: Visensius Krisdianilo. *E-mail: chrizdianilo@gmail.com