

PERBEDAAN VARIASI VOLUME SPUTUM TERHADAP DETEKSI *Mycobacterium tuberculosis* PADA PENDERITA TB MENGGUNAKAN METODE TES CEPAT MOLEKULER

Rafika¹⁾, Chaerunnisa¹⁾, Nurdin¹⁾

¹⁾Poltekkes Kemenkes Makassar

Alamat Korespondensi: rafikauddinramli@gmail.com

Article info

Received : 15-05-2022

Revised : 05-06-2022

Accepted : 05-06-2022

Publish : 28-06-2022

Abstrak

Penyebab utama penyakit TB adalah *Mycobacterium tuberculosis* (MTB). Diagnosis TB dari dahulu menggunakan pemeriksaan mikroskopis BTA, kultur dan molekuler. Saat ini telah digunakan metode diagnosis tuberkulosis menggunakan Tes Molekuler Cepat (TCM). TCM bisa membaca bakteri *Mycobacterium tuberculosis* walaupun sampel sputum hanya 1 mL dan dapat digunakan untuk kasus jumlah spesimen sputum yang didapat sedikit. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* dan menganalisis perbandingan variasi volume sputum terhadap hasil TCM penderita TB paru. Penelitian menggunakan sampel sputum penderita TB paru sebanyak 24 orang dan dilakukan pelaksanaan penelitian di RSUD H. Andi Sulthan Dg. Radja Kabupaten Bulukumba. Teknik pengambilan sampel adalah purposive sampling. Volume sputum dibuat kelompok variasi 0,5 mL, 0,75 mL, 1 mL, 1,5 mL. Setiap volume sputum menggunakan 6 sputum penderita yang berbeda. Volume sputum ditambahkan 2 mL reagen sampel buffer TCM. Penggunaan pengelohan sampel dahak sebanyak 2 mL dalam katrid dan dilakukan pemeriksaan TCM. Hasil diperoleh semua volume sputum dapat mendeteksi adanya *Mycobacterium tuberculosis*. Berdasarkan uji Kruskal-wallis dapat disimpulkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara variasi volume sputum dengan hasil TCM penderita TB paru. Dengan demikian bahwa volume sputum yang sedikit pun (0,5 mL) dapat mendeteksi keberadaan *Mycobacterium tuberculosis*

Kata Kunci: *Mycobacterium tuberculosis*, volume sputum, TCM, penderita TB

Abstract

Tuberculosis is an infectious disease caused by bacteria from *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) that attacks the lungs. One of the methods of diagnosis of tuberculosis uses rapid molecular tests (TCM). TCM can read *Mycobacterium tuberculosis* bacteria even though the sputum sample is only 1 ML and can be used for cases of the number of sputum specimens obtained is small. This study aims to detect *Mycobacterium tuberculosis* and analyze the comparison of variations in sputum volume to TCM results of pulmonary TB patients. The study used sputum samples of 24 pulmonary TB patients and conducted a study at rsud H. Andi Sulthan Dg. Radja Bulukumba Regency. The sampling technique is purposive sampling. The volume of sputum is made a variation group of 0.5 mL, 0.75 mL, 1 mL, 1.5 mL. Each volume of sputum uses 6 different sputum sufferers. The sputum volume is added 2 mL of TCM buffer sample reagent. The use of sputum sample management as much as 2 mL in the cartridge and TCM

examination was carried out. The results obtained all volumes of sputum can detect the presence of Mycobacterium tuberculosis. Based on the Kruskal-wallis test, it can be concluded that there is no significant difference between variations in sputum volume and TCM results of pulmonary TB patients. That the slightest volume of sputum (0.5 mL) can detect the presence of Mycobacterium tuberculosis.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis, sputum volume, TCM, TB sufferers*

PENDAHULUAN

Penyakit menular tuberculosis penyebab utamanya bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang menyerang paru-paru, namun bakteri ini berada pada ekstra paru juga. Sumber penularan tuberculosis yakni penderita Basil Tahan Asam (BTA) positif melalui droplet sputum yang dikeluarkan lewat berbicara, batuk dan bersin yang terhirup oleh orang lain (Panggabean, 2019).

Tuberculosis (TB) menjadi agen infeksi yang mematikan di seluruh dunia setelah HIV/AIDS. Menurut laporan *World Health Organisation* (WHO) tahun 2020 sebanyak 1,4 juta orang meninggal karena tuberculosis (termasuk 208.000 orang dengan HIV). Delapan negara dengan kasus terbanyak, Indonesia merupakan yang kedua setelah India, diikuti oleh Cina, Filipina, Pakistan, Nigeria, Bangladesh, dan Afrika Selatan. Di Indonesia angka prevalensi TB tahun 2017 sebanyak 420.994 kasus (data per 17 Mei 2018), ini yang juga menjadi salah satu dari 3 fokus utama target pemerintah di bidang Kesehatan (Kementerian Kesehatan RI, 2018). Hasil survey pendahuluan di RSUD H. A. Sulthan Dg. Radja di dapatkan jumlah penderita TB Paru sebanyak 325 orang tahun 2019, dan 230 orang di tahun 2020 dari Januari sampai Juni 2021.

Diagnosa TB pada tahap awal sangat sulit dilakukan karena gambaran klinis yang timbul tidak spesifik. Oleh karena itu pemeriksaan gejala klinis yang timbul, pemeriksaan fisik radiologis dan pemeriksaan laboratoris, dibutuhkan untuk diagnosis TB. Metode pemeriksaan

laboratorium untuk mendeteksi penyakit TB yang umumnya digunakan yaitu pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan Ziehl-Nelssen sebagai gold standar karena cukup sederhana, murah, dan memungkinkan cepat mendeteksi penyakit TB paru, namun hasilnya akan berbeda-beda tergantung dari ketelitian teknisi (Tamtyas and Rini, 2020).

Diagnosis lainnya adalah dengan ditemukannya bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) pada kultur sputum atau pemeriksaan biakan. Metode kultur memiliki keterbatasan waktu inkubasi yang lebih lama sekeitar 8 minggu dan diperoleh hasilnya yaitu lebih dari seminggu dan membutuhkan keahlian dan pengetahuan khusus untuk dapat melakukannya. Oleh karena itu diperlukan metode yang menunjang pemeriksaan TB lebih cepat dan memiliki sensitivitas dan spesifitas yang tinggi (Panggabean, 2019).

Saat ini, laboratorium rumah sakit dan puskesmas telah menggunakan alat tes molekuler cepat sebagai metode diagnostik untuk dugaan tuberculosis resistan terhadap obat, tuberculosis-HIV, tuberculosis anak, tuberculosis diabetes, tuberculosis ekstra paru dan kasus terduga tuberculosis dengan basil tahan asam (BTA) negative (Kementerian Kesehatan RI, 2016).

TCM dapat digunakan sebagai tes diagnostik untuk menggantikan pemeriksaan mikroskopik konvensional dan kultur. Tes cepat molekuler (TCM) adalah metode diagnosis tuberculosis terbaru menggunakan pemeriksaan molekuler dengan metode semi

kuantitatif real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) dimana *hotspot* gen *rpoB* dari *Mycobacterium tuberculosis* diintegrasikan secara otomatis mengolah ekstraksi asam deoksiribonukleat (DNA) dalam kotak sekali pakai. Diperlukan waktu kurang dari dua jam untuk mendapatkan hasil, dan hanya pelatihan sederhana yang diperlukan untuk menggunakan alat ini (Kurniawan *et al.*, 2016; Naim and Dewi, 2018). Studi di Ethiopia melaporkan hal yang sama, yaitu pemeriksaan TCM dengan Xpert MTB/RIF dapat mendeteksi MTB dengan sensitivitas 73,8% dan spesifisitas 95% pada pemeriksaan mikroskopis (Tadesse *et al.*, 2016).

Penelitian bertujuan mengetahui perbedaan hasil variasi volume sputum terhadap hasil pemeriksaan TCM untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada penderita TB paru.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan berupa pot dahak, pipet, katrid, alat TCM. Adapun bahan yakni sputum pagi, reagen.

Prosedur Kerja

Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah sputum penderita TB paru sebanyak 24 orang di RSUD H. Andi Sulthan Dg. Radja Kabupaten Bulukumba. Teknik pengambilan sampel adalah *purposive sampling* dengan kriteria inklusi terdiri volume sputum sebanyak 3-5 mL dengan ciri sputum kuning kehijauan/mukopurulen, kental atau mucoid.

Pemeriksaan Sputum dengan TCM

Volume sputum dibuat kelompok variasi 0,5 mL, 0,75 mL, 1 mL, 1,5 mL. Setiap volume sputum menggunakan 6 sputum penderita yang berbeda. Kemudian masing-masing sputum dilakukan pemeriksaan dengan metode TCM. Pengolahan specimen sputum dilakukan pada *Biological Safety Cabinet* (BSC). Langkah awal prosedur kerja TCM yakni dilakukan pemberian label

identifikasi pada katrid dan dituliskan pada bagian sisi katrid. Kemudian mengambil sputum penderita sebanyak 0,5 mL ditambahkan reagen sampel TCM sebanyak 2 mL. Begitu juga volume sputum 0,75 mL, 1 mL dan 1,5 mL dengan menambahkan reagen sampel 2 mL. Setelah itu pot sputum ditutup kembali dan dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu ruang 15 menit. Selanjutnya buka penutup katrid, lalu buka tempat penampung spesimen. Diambil dengan pipet khusus dan memidahkan sampel dahak yang telah diolah sebanyak 2 mL (sampai garis batas pada pipet) ke dalam katrid secara perlahan-lahan, tutup dan dimasukkan ke dalam alat TCM dan diproses secara otomatis kurang lebih 2 jam.

Interpretasi hasil

Hasil pemeriksaan TCM akan menunjukkan ada atau tidaknya DNA *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) kompleks dan ada atau tidaknya penyandi resistensi rifampisin, serta perhitungan semi kuantitatif jumlah basil pada sampel berdasarkan jumlah Ct (*Cycle threshold*) dengan interpretasi hasil terdiri dari MTB *not detected* = tidak terdeteksi MTB; MTB *detected (very low >28, low 22-28, medium 16-22, high <16)*. MTB terdeteksi (jika nilai Ct 28-16).

Pengolahan dan Analisis Data

Pengolahan dan analisis data dilakukan secara komputerisasi dengan menggunakan SPSS. Pengujian secara descriptive dan uji statistik non parametrik *Kruskal-wallis*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini melihat perbandingan hasil pemeriksaan TCM pada setiap variasi volume sputum penderita TB paru. Penelitian telah dilakukan di RSUD H. Andi Sulthan Daeng Radja Kabupaten Bulukumba pada bulan April sampai Mei 2021. Gambaran hasil pemeriksaan deteksi MTB pada TCM dapat dilihat pada table berikut ini.

Tabel 1. Hasil Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) pada variasi volume sputum penderita TB paru

Volume sampel sputum		Hasil pemeriksaan Deteksi MTB	
0,5	A1	terdeteksi	<i>High</i>
	A2	terdeteksi	<i>Low</i>
	A3	terdeteksi	<i>Very low</i>
	A4	terdeteksi	<i>High</i>
	A5	terdeteksi	<i>Medium</i>
	A6	terdeteksi	<i>Very low</i>
0,75	B1	terdeteksi	<i>Low</i>
	B2	terdeteksi	<i>Very low</i>
	B3	terdeteksi	<i>Low</i>
	B4	terdeteksi	<i>Medium</i>
	B5	terdeteksi	<i>Medium</i>
	B6	terdeteksi	<i>Medium</i>
1	C1	terdeteksi	<i>Medium</i>
	C2	terdeteksi	<i>Very low</i>
	C3	terdeteksi	<i>High</i>
	C4	terdeteksi	<i>Low</i>
	C5	terdeteksi	<i>High</i>
	C6	terdeteksi	<i>Very low</i>
1,5	D1	terdeteksi	<i>Medium</i>
	D2	terdeteksi	<i>High</i>
	D3	terdeteksi	<i>High</i>
	D4	terdeteksi	<i>Medium</i>
	D5	terdeteksi	<i>Medium</i>
	D6	terdeteksi	<i>High</i>

Kode sampel: A1-A6; B1-B6; C1-C6; D1-D6

Dalam penelitian ini bertujuan melihat adakah perbedaan volume sputum terhadap deteksi MTB. Variasi volume sputum sesuai yang digunakan berdasarkan petunjuk teknis pemeriksaan TB dengan TCM bahwa apabila volume sputum minimal 0,1-1 mL, ditambahkan reagen sampel ke dalam volume sputum sampai mencapai 2 mL (ratio 2:1). Sedangkan volume sputum 1,5 mL ditambahkan reagen sampel sesuai volume spesimen dengan perbandingan (ratio 1:1) untuk dimasukkan dalam katrid

(Kementerian Kesehatan RI, 2017). Walaupun dalam penelitian ini volume sputum 1,5 mL ditambahkan reagen sampel 2 mL dan mengambil 2 mL hasil pencampuran untuk digunakan dalam katrid TCM. Penelitian Luetkemeyer (2016) bahwa Xpert MTB /RIF menggunakan volume dahak standar 1 hingga 3 mL, baik sebagai dahak langsung atau yang telah dekontaminasi, MTB/RIF pertama dengan BTA *smear*-negatif mengidentifikasi 59% dan mengidentifikasi 71% orang dengan TB paru kultur-positif dan *smear*-negatif (Luetkemeyer *et al.*, 2016). Penelitian (Rarome *et al.*, 2020) menggunakan volume dahak ditambahkan ke GeneXpert MTB/RIF reagen sampel dalam perbandingan 1:1 (1 mL dahak hingga 1 mL reagen sampel). Volume cairan 2 mL campuran ditambahkan ke katrid GeneXpert MTB/RIF diperoleh hasil positif 33,7% dan negative 66,7%.

Sesuai hasil pada tabel 1 diketahui semua sampel sebanyak 24 penderita terdeteksi *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) dengan volume yang berbeda. Berdasarkan uji *Kruskal-Wallis* diperoleh $p=0,23$ bahwa setiap variasi volume sputum penderita TB tidak ada perbedaan dalam mendeteksi keberadaan MTB melalui pemeriksaan TCM.

Dalam pemeriksaan TCM nilai Ct yang menjadi penentuan dalam melihat hasil. Berdasarkan hasil penelitian pada volume 0,5 mL terdapat hasil yang *very low* (Ct > 28 siklus) menunjukkan jumlah DNA MTB sangat sedikit terdeteksi di daerah region target gen *rpoB* dan mendeteksi 81 bp (base pair) core region dari gen *rpoB* pada MTB. Bahwa volume sputum tidak memiliki pengaruh yang signifikan dalam pemeriksaan TCM.

Penelitian diketahui volume sputum 0,5 mL mampu mendeteksi MTB secara *high*. Hal ini bisa dikarenakan jumlah BTA pada sputum yang lebih banyak, walaupun volume sputum yang digunakan sedikit. Begitupun sebaliknya volume sputum 0,75 mL terdapat hasil deteksi

MTB yang *low*. Hal ini berarti penurunan volume sputum tidak linear mempengaruhi penurunan deteksi MTB. Oleh karena pemeriksaan TCM mampu mendeteksi DNA MTB kompleks secara kualitatif dari spesimen langsung. Sehingga dapat dipengaruhi oleh jumlah mikroorganisme dalam spesimen. Hasil sangat dipengaruhi pula cara pengumpulan sampel, pengolahan dan penyimpanan specimen (Kementerian Kesehatan RI, 2017).

Penelitian Husna dan Dewi, melihat perbedaan deteksi *Mycobacterium tuberculosis* menggunakan metode BTA dekontaminasi dan tes cepat molekuler. Dari hasil penelitian ini menggunakan perbandingan volume sputum dan reagen sampel (2:1). Hasil menunjukkan kesamaan hasil BTA dekontaminasi dengan TCM. Hasil BTA negatif dan TCM diperoleh tidak terdeteksi MTB. Sedangkan BTA hasil *scanty* memiliki kesesuaian dengan hasil TCM terdeteksi MTB *very low*, begitu pula BTA positif (1+), sedangkan hasil TCM terdeteksi MTB *low* (Husna and Dewi, 2020).

Seperti penelitian Nurlia dan Novi bahwa metode TCM memiliki nilai spesifisitas yang tinggi yang mampu mendeteksi 90,12% pasien yang tidak terinfeksi MTB dari keseluruhan pasien yang benar-benar tidak terinfeksi, sehingga metode ini efektif digunakan sebagai alat diagnosis MTB. Penelitian Boehme, dkk. menggunakan volume sputum standar GeneXpert MTB/RIF ratio 2:1 yakni penambahan reagen sampel dua kali lipat volume dahak. Hasil diperoleh dari pemeriksaan MTB/RIF dengan 72,5% dari hasil pemeriksaan mikroskopis yang negatif dan 98,2% dari hasil pemeriksaan mikroskopis positif (Boehme *et al.*, 2010).

Phoung (2019) melaporkan hasil penelitian yang sama bahwa konsentrasi sputum dengan buffer standar (2:1) dibandingkan dengan sputum dengan buffer yang dikurangi (1:1) diperoleh

pula hasil positif yang serupa (Phuong *et al.*, 2019).

Bahkan selain sputum yang dikeluarkan dari penderita TB paru, TCM dapat pula mendeteksi MTB pada spesimen ekstra paru. Seperti studi di Afrika Selatan pemeriksaan TCM dengan Xpert MTB/RIF pada pasien TB ekstra paru dari spesimen tinja menunjukkan sensitivitas dan spesifisitas cukup tinggi yaitu masing-masing 31,9% (95%CI 21,84-44,50) dan 99,7% (95%CI 98,2-100).20 Sementara hasil studi di China pemeriksaan TB ekstra paru dari spesimen bilasan bronchoalveolar didapat tingkat sensitivitas dan spesifisitas masing-masing adalah 72,9% dan 98,7% (Lu *et al.*, 2018).

Keterbatasan penelitian ini karena tidak berdasarkan hasil mikroskopis BTA. Sehingga tidak dapat mengetahui perbandingan hasil BTA yang jumlah bakteri dengan variasi volume sputum.

KESIMPULAN DAN SARAN

Penelitian dapat menyimpulkan bahwa variasi volume sputum penderita TB paru dalam mendeteksi MTB menggunakan metode TCM tidak mengalami perbedaan yang signifikan. Adapun saran yakni perlu melakukan deteksi MTB pada spesimen ekstra paru pada anak-anak menggunakan TCM. Selain itu pula dapat dilakukan penelitian mengenai hubungan variasi volume terhadap hasil pemeriksaan mikroskopis BTA negatif dan positif.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih penulis kepada pihak yang membantu dalam proses pengambilan data dan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Boehme, C. C. *et al.* (2010) 'Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance', *The New England journal of medicine*. 2010/09/01, 363(11), pp. 1005–1015. doi: 10.1056/NEJMoa0907847.
- Husna, N. and Dewi, N. U. (2020)

- ‘Perbandingan Hasil Pemeriksaan Mikroskopis Basil Tahan Asam Metode Dekontaminasi Dengan Metode Tes Cepat Molekuler’, *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*, 12(2), pp. 316–323.
- Kementerian Kesehatan RI (2016) *Info Data Tuberkulosis Indonesia*.
- Kementerian Kesehatan RI (2017) *Petunjuk Teknis Pemeriksaan TB dengan TCM*.
- Kementerian Kesehatan RI (2018) *InfoDatin Tuberculosis Kementerian Kesehatan RI*.
- Kurniawan, E. *et al.* (2016) ‘Nilai diagnostik metode “Real Time” PCR geneXpert pada TB Paru BTA negatif’, *Jurnal Kesehatan Andalas*, 5(3).
- Lu, Y. *et al.* (2018) ‘Evaluating the diagnostic accuracy of the Xpert MTB/RIF assay on bronchoalveolar lavage fluid: a retrospective study’, *International Journal of Infectious Diseases*, 71, pp. 14–19.
- Luetkemeyer, A. F. *et al.* (2016) ‘Evaluation of Xpert MTB/RIF Versus AFB Smear and Culture to Identify Pulmonary Tuberculosis in Patients With Suspected Tuberculosis From Low and Higher Prevalence Settings’, *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2016/02/02, 62(9), pp. 1081–1088. doi: 10.1093/cid/ciw035.
- Naim, N. and Dewi, N. U. (2018) ‘Performa Tes Cepat Molekuler Dalam Diagnosa Tuberkulosis Di Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat Makassar’, *Jurnal Media Analis Kesehatan*, 9(2), pp. 113–122.
- Panggabean, E. R. M. (2019) ‘Uji Sensitivitas Dan Spesifisitas Genexpert Pada Penderita Suspek Tuberkulosis Di Puskesmas Pancur Batu Kabupaten Deli Serdang’.
- Phuong, N. T. B. *et al.* (2019) ‘Effect of two alternative methods of pooling sputum prior to testing for tuberculosis with genexpert MTB/RIF’, *BMC Infectious Diseases*, 19(1), pp. 1–4.
- Rarome, B. B. *et al.* (2020) ‘GeneXpert MTB/RIF and Mycobacterium tuberculosis Sputum Culture in Establishing the Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis and Rifampicin Resistance in Suspected Childhood Pulmonary Tuberculosis in Soetomo Hospital’, *Indonesian Journal of Tropical and Infectious Disease*, 8(3), pp. 152–160.
- Tadesse, M. *et al.* (2016) ‘Increased detection of smear-negative pulmonary tuberculosis by GeneXpert Mycobacterium tuberculosis/Rifampicin assay after bleach concentration’.
- Tamtyas, F. I. and Rini, C. S. (2020) ‘The Detection of TB Lungs with Microscopic and the Rapid Molecular Test Methods’, *Medicra (Journal of Medical Laboratory Science/Technology)*, 3(1), pp. 1–4.