

SKRIPSI

**SENSITIVITAS METODE TEST CEPAT MOLEKULER (TCM) GeneXpert®
DAN *REAL TIME QUANTITATIVE POLIMERASE CHAIN REACTION*
(RT-qPCR) DALAM ANALISIS SAMPEL SALIVA UNTUK
DIAGNOSTIK INFEKSI *Mycobacterium tuberculosis***



Oleh :
POETI MEGAWATI
NIM: 2310263542

**PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2025**

SKRIPSI

**SENSITIVITAS METODE TEST CEPAT MOLEKULER (TCM) GeneXpert®
DAN *REAL TIME QUANTITATIVE POLIMERASE CHAIN REACTION*
(RT-qPCR) DALAM ANALISIS SAMPEL SALIVA UNTUK
DIAGNOSTIK INFEKSI *Mycobacterium tuberculosis***

Skripsi ini diajukan sebagai salah satu persyaratan untuk
memperoleh Gelar Sarjana Sains Terapan

Oleh :
POETI MEGAWATI
NIM: 2310263542

**PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2025**



a).Tempat/Tgl lahir: Bukittinggi/05 April 1990;b). Nama Orang Tua: (Ayah) Kahar (alm) (Ibu) Anismar; c)Program Studi: Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis; d).Fakultas Ilmu Kesehatan; e).NIM:2310263542; f).Tgl lulus: 22 April 2025; g).Predikat Lulus: Pujian; h).IPK: 3,95 i). Lama Studi:1 Tahun; j).Alamat: Perumahan Mitra Utama 2 Blok F2 No 11, Kelurahan Banuaran, Padang

**SENSITIVITAS METODE TEST CEPAT MOLEKULER (TCM) GeneXpert® DAN
REAL TIME QUANTITATIVE POLIMERASE CHAIN REACTION
(RT-qPCR) DALAM ANALISIS SAMPEL SALIVA UNTUK
DIAGNOSTIK INFEKSI *Mycobacterium tuberculosis***

SKRIPSI

Oleh : Poeti Megawati

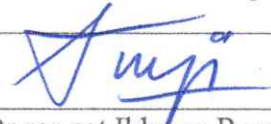
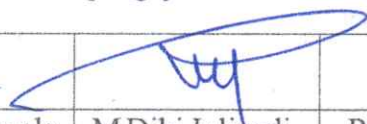
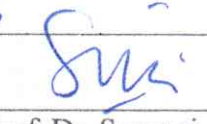
Pembimbing : 1. Dr.rer.nat. Ikhwan Resmala Sudji, S.Si, M. Si
2. M Diki Juliandi, M.Biotek

Abstrak

Tuberkulosis (TB) masih menjadi masalah kesehatan dunia yang perlu mendapatkan perhatian serius. Untuk mendukung upaya pemerintah dalam menaikkan angka keberhasilan pengobatan dan diagnosa TB diperlukan diagnosis akurat dan sampel yang beragam untuk pengendalian TB yang efektif. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan hasil pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* pada sampel saliva dan sputum menggunakan metode Test Cepat Molekuler (TCM) GeneXpert® dan *Qualitative Polimerase Chain Reaction* (qPCR). Penelitian ini menggunakan rancangan *experimental laboratory* secara *invitro* dengan membandingkan hasil pemeriksaan sampel saliva dan sputum menggunakan alat tes TCM GeneXpert® dan RT-qPCR TB Dx pada pasien yang sama. MTB pada sampel saliva dan sputum dapat dideteksi dengan kedua metode. Didapatkan nilai CT tertinggi pada sampel sputum yang diperiksa menggunakan metode TCM yaitu 25,2 dan nilai CT tertinggi pada sampel sputum yang diperiksa menggunakan TB Dx yaitu 38,85. Dari hasil penelitian terbukti bahwa Metode RT-qPCR lebih sensitif untuk mendeteksi MTB dibandingkan metode GeneXpert® dibuktikan dengan *cut off* pemeriksaan GeneXpert® ada di angka 25 sedangkan *cut off* pemeriksaan RT-qPCR ada di angka 38.

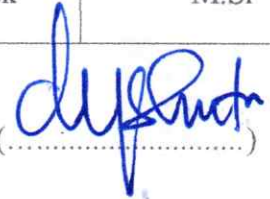
Kata kunci : Tuberkulosis, Tes Cepat Molekuler (TCM), (PCR) Polymerase Chain Reaction

Skripsi ini telah dipertahankan didepan sidang penguji dan dinyatakan **LULUS** Pada 01 Februari 2025. Abstrak ini telah disetujui oleh penguji :

Tanda Tangan			
Nama	Dr.rer.nat.Ikhwan Resmala Sudji, S.Si, M. Si	M Diki Juliandi, M.Biotek	Prof. Dr. Suryani, M.Si

Mengetahui,

Ketua Program Studi : Dr. apt. Dewi Yudiana Shinta, M.Si





a). Place/Date: Bukittinggi/ 5 April 1990; b). Name of Parents: (Father) Kahar (late) (Mother) Anismar; c) Study Program: Applied Bachelor of Medical Laboratory Technology; d). Faculty of Health Sciences; e). NIM: 2310263542; f). Date of Graduation: April 22, 2025; g). Graduation Predicate: Cumlaude; h). GPA: 3.95 i). Length of Study: 1 Year; j). Address: Perumahan Mitra Utama 2 Blok F2 No 11, Kelurahan Banuaran, Padang

SENSITIVITY OF THE GeneXpert® MOLECULAR RAPID TEST METHOD (TCM) AND REAL TIME QUANTITATIVE POLIMERASE CHAIN REACTION (RT-qPCR) IN SALIVA SAMPLE ANALYSIS FOR DIAGNOSIS OF *Mycobacterium Tuberculosis* INFECTION.

THESIS

By : Poeti Megawati

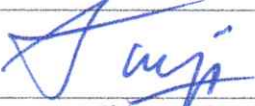
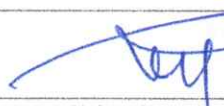
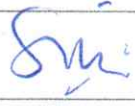
Mentor : 1. Dr.rer.nat. Ikhwan Resmala Sudji, S.Si, M. Si
2. M Diki Juliandi, M.Biotek

Abstract

Some patients exhibiting clinical symptoms indicative of tuberculosis such as persistent productive cough, weight loss, fever, and night sweats often yield negative results on the GeneXpert® test. This discrepancy poses a diagnostic challenge and may lead to delayed treatment. This study aimed to detect the presence of *Mycobacterium tuberculosis* through amplification of the MPT64 gene using the *Quantitative Polymerase Chain Reaction* (qPCR) method in patients with clinical symptoms of tuberculosis but negative GeneXpert® MTB/RIF results. An in vitro experimental design was employed to compare the results of GeneXpert® and TB Dx qPCR Kit tests on sputum samples. The findings showed that the qPCR Kit TB Dx successfully detected *Mycobacterium tuberculosis* DNA in all samples previously reported as negative by GeneXpert®. These results suggest that the qPCR method targeting the MPT64 gene offers higher sensitivity and may serve as a complementary diagnostic tool, particularly in cases with low bacterial load. Therefore, the application of the TB Dx qPCR Kit can enhance diagnostic accuracy and support early detection of tuberculosis.

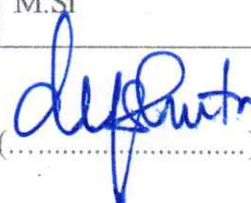
Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, GeneXpert®, qPCR, MPT64

This thesis has been defended in front of the examiner and declared **PASSED** on 01 February 2025. This abstract has been approved by the examiner.

Signature			
Nama	Dr.rer.nat.Ikhwan Resmala Sudji, S.Si, M. Si	M Diki Juliandi, M.Biotek	Prof. Dr. Suryani, M.Si

Knowing,

Head of Study Program Dr. apt. Dewi Yudiana Shinta, M.Si


(.....)

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul : Sensitivitas Metode Test Cepat Molekuler (TCM) GeneXpert® Dan *Real Time Quantitative Polimerase Chain Reaction* (RT-qPCR) Dalam Analisis Sampel Saliva Untuk Diagnostik Infeksi *Mycobacterium Tuberculosis*

Nama Mahasiswa : Poeti Megawati

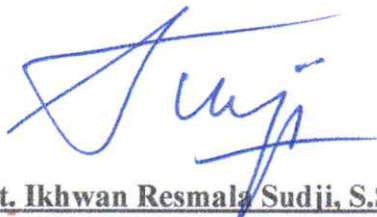
NIM : 2210263542

Program Studi : Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis

Skripsi telah disetujui oleh pembimbing untuk diajukan dihadapan dalam ujian komprehensif skripsi, yang merupakan salah satu syarat menyelesaikan Pendidikan DIV Prodi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis pada Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis Indonesia.

Menyetujui Komisi Pembimbing

Pembimbing I



Dr. rer. nat. Ikhwan Resmala Sudji, S.Si, M. Si

NIDN : 1023097901

Pembimbing II



M. Diki Juliandi, M.Biotek

NIDN : 010079501

SKRIPSI

SENSITIVITAS METODE TEST CEPAT MOLEKULER (TCM) GeneXpert® DAN REAL TIME QUANTITATIVE POLIMERASE CHAIN REACTION (RT-qPCR) DALAM ANALISIS SAMPEL SALIVA UNTUK DIAGNOSTIK INFEKSI *Mycobacterium tuberculosis*

Disusun Oleh :
Poeti Megawati
NIM : 2310263542

Telah diujikan didepan Penguji Skripsi Program Studi Sarjana Terapan Teknologi
Laboratorium Medis Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Perintis Indonesia.

Pada tanggal 1 Februari 2025

Pembimbing I



Dr. rer. nat. Ikhwan Resmala Sudji, S.Si, M. Si
NIDN : 1023097901

Pembimbing II



M. Diki Juliandi, M.Biotek
NIDN : 010079501

Penguji




Prof. Dr. Suryani, M.Si
NIDN : 0027056501

Skripsi ini telah memenuhi persyaratan sebagai pedoman pelaksanaan penyusunan skripsi

Mengetahui :

Ketua program studi sarjana terapan teknologi laboratorium medis fakultas ilmu kesehatan universitas perintis indonesia



Dr.apr. Dewi Yudianta Shinta, M.Si
NIDN : 1016017602

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Poeti Megawati

NIM : 2310263542

Dengan ini saya menyatakan skripsi yang ditulis dengan judul “Sensitivitas Metode Test Cepat Molekuler (TCM) Genexpert® Dan *Real Time Quantitative Polimerase Chain Reaction* (RT-qPCR) Dalam Analisis Sampel Saliva Untuk Diagnostik Infeksi *Mycobacterium tuberculosis*” adalah kerja/karya sendiri dan bukan merupakan duplikat dari hasil karya orang lain, kecuali kutipan yang sumbernya dicantumkan. Jika kemudian hari pernyataan ini tidak benar maka status kelulusan menjadi batal dengan sendirinya.

Padang, Januari 2025

Penulis

Megawati



PERSEMBAHAN

Dengan segenap rasa syukur dan cinta yang tak terhingga, karya sederhana ini kupersembahkan untuk:

Ibu dan Papa (di surga) tercinta,

yang tak pernah lelah mendoakan dan menyemangati setiap langkahku. Terima kasih atas kasih sayang, kerja keras, dan pengorbanan tanpa batas yang menjadi fondasi utama dalam hidupku. Segala pencapaian ini tak akan pernah ada tanpa kalian.

Suamiku tersayang,

penyemangat setia dalam suka dan duka. Terima kasih telah menjadi tempatku pulang, tempatku berteduh, dan sahabat terbaik dalam perjalanan ini. Dukungan, kesabaran, dan cintamu adalah anugerah terbesar dalam hidupku.

Anak tercinta,

yang menjadi sumber kekuatan dan alasan terbesarku untuk terus berjuang. Kehadiranmu adalah cahaya yang selalu menguatkanku di saat lelah dan hampir menyerah.

Dosen Pembimbing yang saya hormati,

terima kasih atas bimbingan, ilmu, kesabaran, dan arahan yang telah diberikan dengan tulus sepanjang proses ini. Setiap kritik dan masukan menjadi bekal berharga dalam perjalanan akademik dan kehidupan saya.

Teman-teman seperjuangan seangkatan,

kebersamaan, tawa, air mata, dan semangat kalian akan selalu menjadi bagian indah dari kisah ini. Terima kasih telah menjadi bagian dari perjalanan luar biasa ini.

BIODATA



Nama : Poeti Megawati, Amd. AK

Tempat, tanggal lahir : Bulittinggi, 05 April 1990

Agama : Islam

Jenis kelamin : Perempuan

Alamat : Padang

Riwayat pendidikan : 1. SD N 09 Belakang Balok, Bukittinggi
2. SMP N 1 Bukittinggi
3. SMA N 2 Bukittinggi
4. D-III Analis Kesehatan Universitas Perintis Indonesia

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “Sensitivitas Metode Test Cepat Molekuler (TCM) Genexpert® Dan *Real Time Quantitative Polimerase Chain Reaction* (RT-qPCR) Dalam Analisis Sampel Saliva Untuk Diagnostik Infeksi *Mycobacterium tuberculosis*”.

Tujuan penulisan skripsi ini adalah untuk memenuhi salah satu persyaratan untuk menyelesaikan studi pada program Diploma DIV TLM Universitas Perintis Indonesia.

Dalam penyelesaian skripsi ini penulis banyak mendapat bantuan baik materil maupun moril dari berbagai pihak, untuk itu penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Ibu Dr. Ns. Yaslina, S. Kep. M.Kep, Kom selaku Rektor Universitas Perintis Indonesia.
2. Bapak Dr. Rer. Nat. Ikhwan Resmala Sudji, S.Si., M.Si selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis Indonesia, sekaligus selaku pembimbing satu yang telah membimbing dan mengarahkan Penulis dalam membantu menyelesaikan penulisan skripsi ini.
3. Ibu Dr. apt. Dewi Yudiana Shinta, M.Si
4. M. Diki Juliandi, M.Biotek selaku pembimbing dua yang telah membimbing dan mengarahkan Penulis dalam membantu menyelesaikan penulisan skripsi ini.

5. Prof. Dr. Suryani, M.Si selaku penguji, terimakasih atas petunjuk dan saran yang diberikan kepada penulis.
6. Bapak dan Ibu dosen pengajar Sarjana Terapan Analisis Kesehatan/TLM Universitas Perintis Indonesia yang telah berkenan memberikan ilmunya kepada penulis semoga bermanfaat nantinya.
7. Suami Tercinta Ns. Wendo Davris, S. Kep yang telah memberikan dukungan dan semangat.
8. Teristimewa Anak, Ibu, Adik yang telah memberikan dukungan.
9. Rekan-rekan Laboratorium Semen Padang Hospital yang telah memberikan dukungan.
10. Rekan-rekan angkatan dan semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian dan penulisan proposal penelitian ini.

Dalam kesempatan ini penulis ucapkan rasa hormat dan terima kasih yang sebesar-besarnya atas bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak secara langsung maupun tidak langsung.

Namun masih banyak terdapat kekurangan baik dalam bentuk isi maupun pembahasannya, oleh karena itu penulis berharap agar penelitian ini dapat bermanfaat untuk ilmu pengetahuan. Amin

Padang, Januari 2025

Poeti Megawati

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
ABSTRAK	iii
LEMBAR PERSETUJUAN	v
LEMBAR PENGESAHAN	vi
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	vii
BIODATA	viii
KATA PENGANTAR	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Pengertian dan Epidemiologi Tuberculosis	5
2.2 Metode Terdepan Diagnostik TB menggunakan Nucleic Acid Amplification Test (NAAT)	6
2.3 Sampel Pemeriksaan Untuk Diagnosa Tuberculosis	11
2.4 Tantangan dan Diagnosa Tuberculosis	13
BAB III METODE PENELITIAN	15
3.1 Jenis Penelitian	15
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	15
3.3 Populasi Sampel	15
3.4 Teknik Pengambilan Sampel	16

3.5 Bahan dan Alat	16
3.6 Variabel Penelitian	16
3.7 Prosedur Penelitian	17
3.8 Analisis Data	18
3.9 Kerangka Operasional Penelitian	19
BAB IV HASIL PENELITIAN	20
4.1 Gambaran Klinis Sampel	20
4.2 Hasil Pemeriksaan TCM	21
4.3 Hasil Isolasi DNA	21
4.4 Hasil Pemeriksaan <i>Real Time</i> q-PCR	23
4.5 Perbandingan Hasil Pemeriksaan GeneXpert® dan RT-qPCR	24
BAB V PEMBAHASAN	26
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	35

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 4.1 Gambaran Klinis Sampel	19
Tabel 4.2 Hasil Pemeriksaan TCM	20
Tabel 4.3 Hasil Isolasi DNA	18
Tabel 4.4 Hasil Pemeriksaan RT-qPCR	22
Tabel 4.5 Perbandingan Hasil Pemeriksaan GeneXpert® dan RT-qPCR	23

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	6
Gambar 2.2.2 Proses RT-qPCR	10
Gambar 3.9 Alur Penelitian	18
Gambar 4.2. Kurva hasil Pemeriksaan TCM pasa sampel sputum dan saliva	20

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Surat Permohonan Penelitian ke Puskesmas Andalas	35
Surat Permohonan Penelitian ke PDRPI UNAND Padang	36
Dokumentasi Alat, Bahan, Reagensia dan Kegiatan Penelitian	37
Tata Cara Ekstraksi DNA	38
Protokol TCM	40
Hasil Turnitin	42
Kartu Bimbingan	43

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tuberkulosis (TB) masih menjadi masalah kesehatan dunia yang perlu mendapatkan perhatian serius, terutama di negara-negara berkembang. Menurut laporan World Health Organization (WHO) tahun 2023, diperkirakan 10,6 juta orang terinfeksi TB pada tahun 2022, dengan 1,6 juta kematian yang diakibatkan penyakit ini. Indonesia merupakan negara peringkat ke-2 penderita TBC tertinggi di dunia setelah India dengan 821.200 kasus ditemukan pada tahun 2023. Angka penemuan kasus di Indonesia mencapai 77,5% dari 90% target Renstra yang ditetapkan Kementerian Kesehatan tahun 2023 (Kemenkes RI, 2023).

Di provinsi Sumatera Barat angka penemuan kasus baru mencapai 59,9% dengan angka keberhasilan pengobatan mencapai 87,89%. Untuk mendukung upaya pemerintah dalam menaikkan angka keberhasilan pengobatan dan diagnosa TB diperlukan diagnosis dini yang akurat untuk pengendalian TB yang efektif (Kemenkes RI, 2023). Dalam Surat Edaran (SE) Direktorat Jenderal P2P Nomor HK.02.02/III.I/936/2021 tentang Perubahan Alur Diagnosis dan Pengobatan Tuberkulosis di Indonesia, disebutkan bahwa pemeriksaan TCM (Test Cepat Molekuler) merupakan alat diagnosis utama tuberkulosis. TCM merupakan alat pendeteksi TB yang menggunakan metode molekuler qualitative Polimerasi Chain Reaktion (qPCR). TCM memiliki sensitivitas dan spesifisitas untuk diagnosis TBC

yang jauh lebih baik dibandingkan pemeriksaan mikroskopis. Namun pemeriksaan secara mikroskopis masih tetap digunakan sebagai pemantauan pengobatan (follow up). Sejak tahun 2012, Program Nasional Penanggulangan TBC telah menggunakan pemeriksaan TCM GeneXpert® dengan kartrid Xpert MTB/RIF yang secara cepat dapat mengidentifikasi MTB serta resistansi terhadap rifampisin secara simultan (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2023).

Alat GeneXpert® ini berukuran cukup compact sehingga tidak memerlukan tempat yang luas di laboratorium. Walaupun demikian, TCM masih memiliki kekurangan yaitu harga yang cukup mahal, tidak dapat melakukan validasi proses ekstraksi DNA dan hanya terdistribusi untuk program Kemenkes. Oleh sebab itu, pemeriksaan menggunakan RT-qPCR dikembangkan untuk mendiagnosa TB dengan uji reaksi rantai polimerase real-time (RT-PCR). Uji RT-qPCR biasanya digunakan untuk mengetahui apakah DNA MTB ada dalam sampel dan untuk menemukan DNA yang diperkuat saat reaksi berkembang secara real-time. Dengan menggunakan primer komplementer, uji RT-qPCR ini dapat memantau amplifikasi molekul DNA/RNA yang ditargetkan (Babafemi et al., 2017).

Sputum telah lama menjadi spesimen standar untuk diagnosis TB paru. Namun, pengumpulan sputum sering sulit dilakukan pada beberapa pasien, seperti anak-anak, lansia dan pasien yang tanpa gejala batuk. Selain itu, prosedur pengumpulan sputum berisiko tinggi menularkan infeksi kepada petugas kesehatan. Oleh karena itu, terdapat kebutuhan untuk mengembangkan metode pengumpulan sampel yang lebih aman dan mudah.

Saliva adalah sampel alternatif yang sapat dijadikan pengganti sputum untuk diagnosis TB. Pengumpulan saliva bersifat non-invasif, mudah dilakukan, dan memiliki risiko penularan yang lebih rendah dibandingkan sputum. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa *Mycobacterium tuberculosis* dapat terdeteksi dalam saliva pasien TB, namun sensitivitasnya dibandingkan dengan sputum masih perlu diteliti lebih lanjut.(Byanyima et al., 2022)

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan hasil CT value pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* pada sampel saliva dan sputum menggunakan metode qPCR. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi berharga tentang potensi penggunaan saliva sebagai alternatif atau pelengkap sputum dalam diagnosis molekuler TB, serta membantu mengoptimalkan protokol pengujian untuk meningkatkan akurasi diagnosis TB.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah *Mycobacterium tuberculosis* dapat di deteksi pada sampel saliva menggunakan metoda RT-qPCR?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk membandingkan hasil CT value pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* pada sampel saliva dan sputum menggunakan metode qPCR

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk menganalisis perbedaan signifikan antara CT value yang diperoleh dari

sampel saliva dan sputum.

2. Untuk mengetahui CT Value pemeriksaan saliva pada RT-qPCR
3. Untuk membandingkan nilai CT Value dari sampel sputum dan saliva dengan metode RT-qPCR.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Menambah keterampilan dalam melaksanakan pemeriksaan menggunakan metode Test Cepat Molekuler (TCM) GeneXpert® dan Quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR).

1.4.2 Bagi Institusi Pendidikan

Menambah referensi dalam mata kuliah biomolekuler khususnya di bidang pemeriksaan Test Cepat Molekuler (TCM) GeneXpert® dan Quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR) dalam mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* penyebab penyakit tuberkulosis.

1.4.3 Bagi Fasilitas Layanan Kesehatan

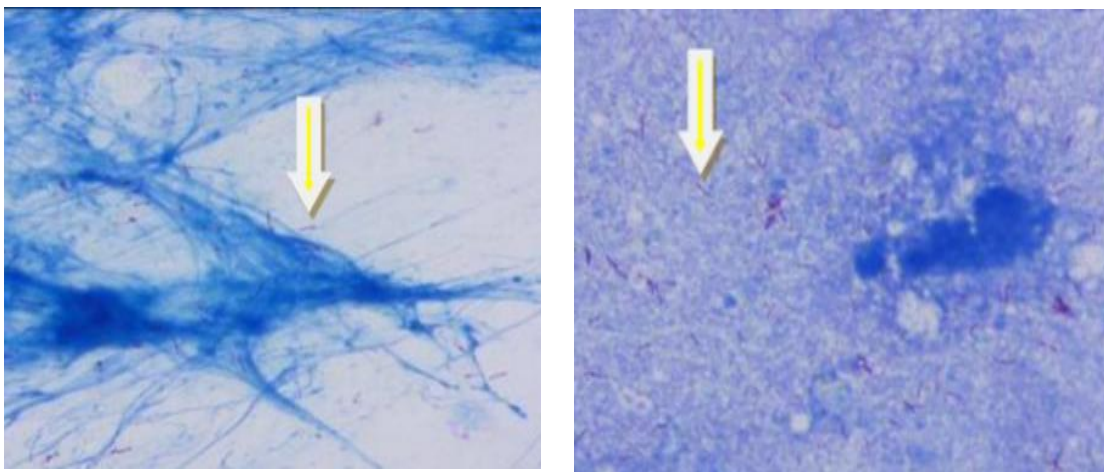
Dapat menjadikan saliva sebagai alternatif yang menjanjikan untuk sampel diagnosis TB sesuai dengan tujuan Organisasi Kesehatan Dunia WHO untuk mengembangkan tes non-sputum dan dapat mengurangi jumlah kasus TB yang tidak didiagnosis, terutama bagi pasien yang sulit untuk menghasilkan sputum.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pengertian dan Epidemiologi Tuberkulosis

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit menular yang disebabkan oleh kuman *Mycobacterium tuberculosis* (MTB). Kuman tersebut menyebar dari penderita TB melalui udara. Kuman MTB ini biasanya menyerang organ paru, namun dapat juga menyerang selain paru (ekstra paru).



Gambar 2.1 *Mycobacterium tuberculosis* sumber : (Widodo et al., 2022)

Mycobacterium tuberculosis adalah bakteri berbentuk batang lurus atau sedikit melengkung, tidak berspora dan tidak berkapsul. Bakteri ini memiliki ukuran lebar 0,3 – 0,6 μm dan panjang 1 – 4 μm . Bakteri ini bisa bertahan hidup dalam lingkungan yang bervariasi, termasuk dalam lingkungan dengan tekanan oksigen yang sangat rendah. Hal ini menyebabkan MTB dapat bertahan di dalam tubuh dalam kondisi yang tidak

optimal dan dapat mengalami reaktivasi di kemudian hari jika situasi lingkungan memungkinkan (Perhimpunan Dokter Paru Indonesia, 2021).

Hampir seperempat penduduk dunia terinfeksi dengan kuman *Mycobacterium tuberculosis*. Sekitar 89% TB diderita oleh orang dewasa (56,5% laki-laki dan 32,5% perempuan) dan 11% diderita oleh anak-anak. Sampai saat ini, TB masih merupakan penyebab kematian tertinggi setelah HIV/AIDS, dan merupakan salah satu dari 20 penyebab utama kematian di seluruh dunia. Sebagian besar estimasi kematian yang disebabkan TBC tercatat di empat negara, yaitu India, Indonesia, Myanmar, dan Filipina. Jumlah kematian akibat TBC (di antara pasien HIV negatif) secara global pada tahun 2022 sebesar 1,1 juta, hal ini mengalami penurunan jika dibandingkan tahun 2021 yaitu sebesar 1,2 juta (Kemenkes RI, 2023).

2.2 Metode Terdepan Diagnostik TB Menggunakan Nucleic Acid Amplification Test (NAAT)

2.2.1 Pemeriksaan Test Cepat Molekuler (TCM)

Metode diagnosis GeneXpert® menggunakan Cartridge berbasis Nucleic Acid Amplification Test (CB-NAAT) yang menggunakan prinsip Polymerase Chain Reaction (PCR). Metode ini mampu memperbanyak muatan genetik dari bakteri dapat dengan cepat terdeteksi. Pemeriksaan dengan metode GeneXpert® dapat langsung mendeteksi Multi Drug Resistent Tuberculosis (MDR-TB) yang resisten terhadap antibiotik Rifampisin. Namun, kekurangan dari GeneXpert® yaitu biaya pemeriksaan dengan alat ini lebih mahal (Nasywa et al., 2022). Selain itu, proses ekstraksi DNA

dilakukan secara close system yaitu di dalam cartridge, sehingga petugas pemeriksa tidak dapat menilai apakah proses ekstraksi DNA berjalan dengan baik atau tidak. Hal tersebut dapat mengakibatkan hasil negatif palsu.

Nilai sensitivitas yang tinggi pada metode GeneXpert® digunakan sebagai alat skrining untuk mendeteksi pasien yang menderita TB paru, sedangkan nilai spesifisitas yang tinggi dapat menentukan seseorang terdiagnosis TB paru atau tidak. Dalam hal ini, pemeriksaan dengan metode GeneXpert® dapat digunakan sebagai skrining maupun penentu diagnosis TB paru sehingga pemberian terapi lebih dini dan optimal (Nasywa et al., 2022).

Dalam program penanggulangan TB di Indonesia, pemerintah memfasilitasi pusat pelayanan kesehatan yang ditunjuk berupa alat TCM GeneXpert® dengan menggunakan kartrid TCM Xpert MTB/RIF Ultra. Kartid ini dapat mendeteksi keberadaan DNA bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) dan menilai resistansi bakteri tersebut terhadap Obat Anti TB (OAT) Rifampisin dengan metode Real-Time Polymerase Chain Reaction (PCR). Pemeriksaan TCM Xpert MTB/RIF membutuhkan waktu pemrosesan <80 menit.

Metode RT-PCR pada TCM Xpert MTB/RIF ini mengamplifikasi sekuens spesifik gen *rpoB* menggunakan probe *rpo* 1 – 4 dan tambahan satu gen target yaitu IS1081/IS6110 yang berfungsi mendeteksi kehadiran DNA MTB kompleks di dalam spesimen. Kartrid Xpert MTB/RIF Ultra juga memiliki Sample Processing Control (SPC) dan Probe Check Control (PCC).

Interpretasi hasil dari TCM GeneXpert® MTB/RIF Ultra adalah sebagai berikut:

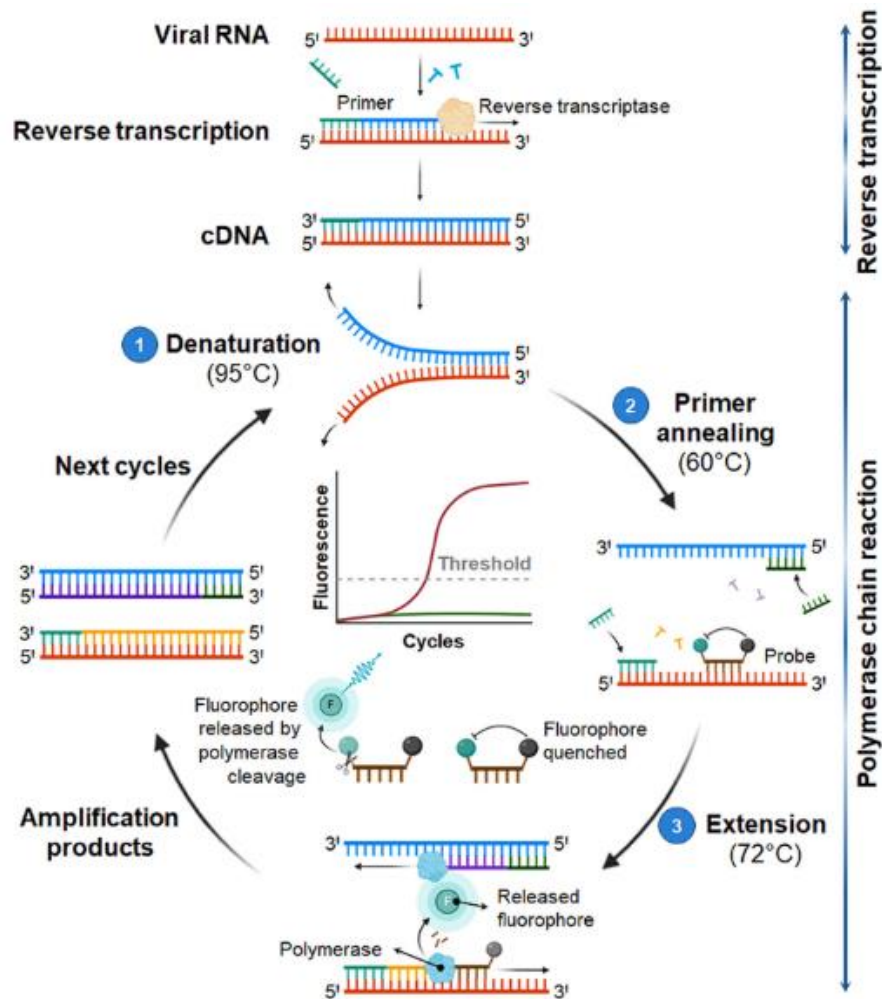
1. 'MTB Terdeteksi' apabila IS1081/IS6110 terdeteksi dan minimal ada dua probe gen rpoB yang terdeteksi.
2. 'Resistensi Rifampisin Tidak Terdeteksi' apabila IS1081/IS6110 terdeteksi dan keempat probe gen rpoB terdeteksi pada sekuens wild type.
3. 'Resistensi Rifampisin Terdeteksi' apabila IS1081/IS6110 terdeteksi dan minimal ada 1 probe gen rpoB yang terdeteksi pada sekuens mutan.
4. 'Resistensi Rifampisin Indeterminate' apabila ada minimal 1 probe yang tidak terdeteksi baik pada sekuens wild type maupun mutan.
5. 'MTB Tidak Terdeteksi' apabila IS1081/IS6110 tidak terdeteksi dan internal kontrol berada dalam rentang yang valid.
6. 'MTB Terdeteksi Trace' apabila hanya IS1081/IS6110 terdeteksi atau IS1081/IS6110 serta 1 probe rpoB terdeteksi yang disebabkan karena jumlah bakteri yang terlalu sedikit. Hasil Trace selalu diikuti dengan hasil Indeterminate (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2023).

IS1081/IS6110 adalah gen target yang digunakan pada pemeriksaan TCM metode GeneXpert® untuk mendeteksi keberadaan MTB. Gen IS6110 memiliki banyak Salinan genom MTB sehingga sensitivitas deteksi menggunakan gen ini cukup tinggi. Gen IS1081 memiliki kemampuan membedakan antara infeksi tuberculosis dan non tuberculosis. Sehingga kombinasi kedua gen ini pada pemeriksaan TCM metode GeneXpert® meningkatkan akurasi deteksi MTB (Raj et al., 2016).

2.2.2 Pemeriksaan *RealTime-quantitative Polimerase Chain Reaction* (RT-qPCR)

RT-qPCR adalah metode laboratorium yang digunakan untuk mendeteksi dan mengukur jumlah spesifik DNA atau RNA dalam sampel. Metode ini menggabungkan dua proses yaitu reaksi rantai polimerase (PCR) dan kuantifikasi waktu nyata (real time). Reaksi PCR digunakan untuk memperbanyak DNA yang dihasilkan dari RNA melalui proses transkripsi terbalik (reverse transcription). qPCR mendeteksi dan mengamplifikasi DNA atau RNA target secara real-time menggunakan probe fluoresens atau pewarna pengikat DNA untuk memantau sinyal amplifikasi yang berbanding lurus dengan asam nukleat target yang ada. Pada metode ini proses ekstraksi DNA dilakukan secara close system dimana keberhasilan ekstraksi DNA dapat divalidasi dengan dua cara yaitu menggunakan spektrofotometer dan

Mesin qPCR dapat memproses sampel dalam jumlah banyak secara bersamaan. Terdapat dua macam plat yang dapat menganalisis sampel dalam satu kali running yaitu 96 test dan 384 test. Mesin ini cocok digunakan untuk jumlah sampel yang banyak (throughput tinggi). Hasil pemeriksaan qPCR ditampilkan dalam kurva nilai siklus ambang batas (Ct), yang menggambarkan siklus amplifikasi saat sinyal fluoresensi mencapai ambang batas tertentu. (Meregildo-Rodriguez et al., 2023). Metode ini memungkinkan peneliti untuk menentukan jumlah salinan DNA dalam sampel secara kuantitatif.



Gambar 2.2.2 Proses RT-qPCR (Afzal, 2020)

RT-qPCR banyak digunakan dalam membantu diagnosis penyakit seperti *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) dalam kasus tuberkulosis. Metode memiliki sensitivitas dan spesifisitasnya yang tinggi, serta kemampuannya untuk memberikan hasil dengan cepat dibandingkan dengan metode kultur konvensional. RT-qPCR memiliki akurasi 92,7%, dengan sensitivitas 62,5% dan spesifisitas 97,02% (Lv et al., 2017).

Pemeriksaan RT-qPCR dapat mendeteksi beberapa gen *Mycobacterium tuberculosis* diantaranya IS6110, MPT64, rpoB dan lain-lain. Gen MPT64 merupakan gen spesifik untuk mendeteksi MTB dengan kelebihan sebagai berikut:

1. Memiliki spesifisitas yang tinggi . yaitu 99% pada percobaan menggunakan sampel biopsi yang dapat membedakan MTB dengan non-MTB
2. Memiliki nilai prediksi positif yang baik (88%), yang menunjukkan bahwa ketika tes ini positif, ada kemungkinan tinggi bahwa pasien benar-benar memiliki TB (Hoel et al., 2020).

Dalam penelitiannya (Raj et al., 2016) juga menyebutkan bahwa MPT 64 memiliki sensitibitas yang lebih tinggi dalam mendiagnosa tuberkulosis dibandingkan IS6110 dan IS1081 dengan memberikan hasil positif yang lebih banyak pada kasus yang diteliti dibandingkan dua gen lainnya.

Kit TB-DX adalah Kit deteksi MTB yang diproduksi oleh PT Crown_Lab® dengan menggunakan gen target MPT64. Reagen ini mengandung enzim DNA polimerase serta nukleotida yang diperlukan untuk mereplikasi DNA target. PCR Reagen TB DX dirancang untuk memberikan hasil yang sangat spesifik dan sensitif dalam deteksi TB dengan mengenali secara spesifik DNA *Mycobacterium tuberculosis* sehingga dapat menghindari deteksi palsu dari organisme lain.

2.3 Sampel Pemeriksaan Untuk Diagnosa Tuberkulosis

Menurut WHO Consolidated Guidelines On Tuberculosis 2020 sampel utama yang direkomendasikan untuk pemeriksaan tuberkulosis adalah sputum/ dahak. Sputum adalah lendir hasil ekskresi paru-paru yang keluar ketika seseorang batuk aktif

yang mengandung organisme patogen *Mycobacterium tuberculosis*, yang merupakan penyebab utama tuberkulosis. Sampel sputum biasa digunakan untuk pemeriksaan dengan metode kultur, Basil Tahan Asam (BTA), dan GeneXpert®.

Sputum akan sulit di hasilkan oleh sebagian penderita tuberkulosis seperti anak-anak, penderita yang sangat lemah dan penderita tanpa gejala khas TB. Penampungan sampel sputum juga memiliki risiko menghasilkan aerosol yang mudah menginfeksi petugas. Oleh sebab itu WHO memberikan seruan pengembangan pemeriksaan TB menggunakan sampel non-sputum seperti serum atau plasma, saliva, biopsi jaringan, cairan serebrospinal, cairan pleura, sekresi abses, urin, biopsi usus, feses dan lain-lain agar diagnosis TB dapat dilakukan lebih komprehensif.. Namun hanya sedikit penduan yang menjelaskan tentang metode pelaksanaan pemeriksaan menggunakan sampel non-sputum (Meregildo-Rodriguez et al., 2023).

Saliva merupakan sampel yang berasal dari mukosa dan saluran nafas, yang paling memungkinkan mengandung biomarker tuberkulosos selain sputum. Sampel saliva dapat diperoleh dengan cara yang mudah, dapat dilakukan berulang, tidak memerlukan keterampilan khusus dan tanpa rasa sakit. Penampungan sampel saliva pun tidak ada persyaratan khusus, hanya dengan menampung pada wadah bersih dan tertutup. Untuk diagnosis tuberkulosis sampel saliva dapat digunakan walaupun sensitifitasnya perlu di kaji ulang jika dibandingkan dengan sampel sputum. (Khambati et al., 2021).

2.4 Tantangan dalam Diagnosa TB

Menurut WHO Consolidated Guidelines On Tuberculosis 2020 sampel utama yang direkomendasikan untuk pemeriksaan tuberkulosis adalah sputum/ dahak. Sputum adalah lendir hasil ekskresi paru-paru yang keluar ketika seseorang batuk aktif yang mengandung organisme patogen *Mycobacterium tuberculosis*, yang merupakan penyebab utama tuberkulosis. Sampel sputum biasa digunakan untuk pemeriksaan dengan metode kultur, Basil Tahan Asam (BTA), dan GeneXpert®.

Sputum akan sulit di hasilkan oleh sebagian penderita tuberkulosis seperti anak-anak, penderita yang sangat lemah dan penderita tanpa gejala khas TB. Penampungan sampel sputum juga memiliki risiko menghasilkan aerosol yang mudah menginfeksi petugas. Oleh sebab itu WHO memberikan seruan pengembangan pemeriksaan TB menggunakan sampel non-sputum seperti serum atau plasma, saliva, biopsi jaringan, cairan serebrospinal, cairan pleura, sekresi abses, urin, biopsi usus, feses dan lain-lain agar diagnosis TB dapat dilakukan lebih komprehensif. Namun hanya sedikit penduan yang menjelaskan tentang metode pelaksanaan pemeriksaan menggunakan sampel non-sputum (Meregildo-Rodriguez et al., 2023).

Saliva merupakan sampel yang berasal dari mukosa dan saluran nafas, yang paling memungkinkan mengandung biomarker tuberkulosos selain sputum. Sampel saliva dapat diperoleh dengan cara yang mudah, dapat dilakukan berulang, tidak memerlukan keterampilan khusus dan tanpa rasa sakit. Penampungan sampel saliva pun tidak ada persyaratan khusus, hanya dengan menampung pada wadah bersih dan tertutup. Untuk diagnosis tuberkulosis sampel saliva dapat digunakan walaupun

sensitifitasnya perlu di kaji ulang jika dibandingkan dengan sampel sputum. (Khambati et al., 2021).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan metode experimental laboratory secara in vitro dengan membandingkan hasil pemeriksaan sampel sputum yang menggunakan alat Tes Cepat Molekuler (TCM) GeneXpert® dengan sampel saliva dan sputum menggunakan alat Real Time Quantitative Polymerase Chain Reaction (RT-qPCR) pada pasien yang sama.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di dua tempat. Untuk pengambilan sampel dan hasil Tes Cepat Molekuler (TCM) GeneXpert® dilakukan di UPT Puskesmas Andalas Kota Padang, sedangkan untuk pemeriksaan Real Time Quantitative Polymerase Chain Reaction (RT-qPCR) dilakukan di Laboratorium Pusat Diagnostik dan Riset Penyakit Infeksi (PDRPI) Universitas Andalas Padang. Penelitian ini dirancang dan dilaksanakan pada bulan Oktober 2024 – 21 Januari 2025.

3.3 Populasi dan Sampel

Populasi penelitian ini adalah pasien yang terdiagnosa positif dan negatif tuberculosis melalui hasil TCM. Sampel penelitian ini adalah sputum dan saliva dari pasien yang terdiagnosa positif tersebut.

3.4 Teknik Pengambilan Sampel

Sampel penelitian diperoleh dengan cara *targeted random sampling* dengan pendekatan *simple random sampling*. Peneliti meminta izin kepada pasien yang terdiagnosa positif dan negatif untuk menampung saliva dan sputum nya, yang kemudian diperiksa menggunakan qPCR.

3.5 Bahan dan Alat Penelitian

3.5.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Alkohol 70%, aquades steril, sampel saliva dan sputum pasien, Crown_Lab Bacterial Sputum Extraction Kit dan Detection Kit Crown_Lab TB Dx.

3.5.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tisu, pot sampel sputum, mikropipet, centrifuge, vortex, heating block, Cartridge TCM GeneXpert®, Mikrotube, Bio-Rad CFX 96 Real Time System.

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1. Variabel Independen

Variabel independen dalam penelitian ini adalah Test Cepat Molekuler (TCM) dan Quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR).

3.6.2. Variabel Dependen

Variabel dependen dalam penelitian ini adalah sensitivitas pemeriksaan metode TCM dan qPCR

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Penampungan Sampel Saliva

Saliva ditampung pada pot baru yang bermulut lebar dengan tutup ulir dan sudah tercantum identitas pasien. Pengumpulan spesimen saliva harus dilakukan di ruang terbuka, mendapat sinar matahari langsung, dekat dengan wastafel, ada tempat sampah infeksius, dan tidak dilalui oleh banyak orang. Pasien diminta berkumur dengan air minum sebelum mengeluarkan saliva. Saliva ditampung sekitar 2 - 5 ml dan tutup pot dengan rapat. Pasien diminta membersihkan mulut dengan tissue lalu buang pada tempat sampah infeksius serta cuci tangan dengan sabun dan air mengalir.

3.7.2 Quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR)

Penelitian ini menggunakan kit Crown TB Dx.

a. Ekstraksi DNA sputum dan saliva

Sebelum melakukan ekstraksi DNA sputum dan saliva petugas harus menggunakan alat pelindung diri untuk menghindari kontaminasi sampel kepada petugas. Sampel diambil sebanyak 200 µl dan dicampurkan dengan 200 µl lysis buffer di dalam mikrotube steril. Gunakan vortex agar pencampuran maksimal dan tidak kental. Untuk memisahkan DNA dari bahan lain yang ada pada sampel, sentrifus pada kecepatan 5.000 rpm selama 10 menit. Pelet akan tertinggal di dasar di dasar microtube dan supernatan dibuang.

Endapan yang dihasilkan ditambahkan Wash Buffer sebanyak 500 µl dan gunakan kembali vortex agar campuran menjadi homogen. Campuran di sentrifus pada kecepatan 14.000 rpm selama 5 menit untuk mendapatkan endapan berupa DNA bakteri. Selanjutnya endapan ditambahkan Elution Buffer sebanyak 500 µl dan vortex

hingga pelet larut. Campuran inkubasi pada suhu 95°C selama 10 menit dan disentrifius pada kecepatan 14.000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang dihasilkan akan dipindahkan ke mikrotube steril baru, dan kemudian isolate dapat disimpan pada suhu -20°C.

b. Preparasi PCR

Kit reagen Crown TB DX dibiarkan di suhu ruang. Setiap reagen akan di campurkan di dalam tube dengan komposisi seperti pada table di bawah

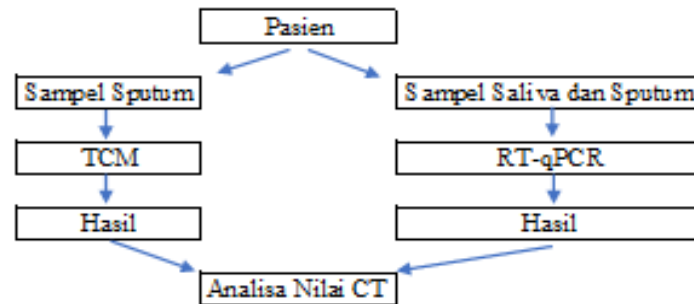
Komponen	Volume (µl)
TB DX RT-PCR Mixture	4.0
TB DX PP Mixture	12.0
Template DNA/ Kontrol Positif/ Kontrol Negatif	4.0
Total Reaction Volume	20.0

Campuran divortex dan spin down sebentar. Sampel siap untuk di lakukan pemeriksaan menggunakan mesin PCR. Hasil dari pemeriksaan akan diinterpretasikan dan diverifikasi dengan membaca kurva yang tampil pada monitor.

3.8 Analisis Data

Data dianalisis dengan membandingkan nilai CT value antara Tes Cepat Molekuler (TCM) GeneXpert® dengan *Quantitative Polymerase Chain Reaction* (qPCR).

3.9 Kerangka Operasional Penelitian



Gambar 3. 9. Alur Penelitian

BAB IV

HASIL PENELITIAN

4.1 Gambaran Klinis Sampel

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan 20 September 2024 hingga 21 Januari 2025 di Laboratorium Puskesmas Andalas Kota Padang untuk pemeriksaan Test Cepat Molekuler (TCM) menggunakan alat GeneXpert® dan Laboratorium Pusat Diagnostik dan Riset Penyakit Infeksi (PDRPI) Universitas Andalas Padang untuk pemeriksaan *Real Time Quantitative Polymerase Chain Reaction* (RT-qPCR) menggunakan kit TB-DX. Sampel sputum dan saliva didapat dari pasien yang berobat ke poliklinik TB Puskesmas Andalas kota Padang.

Tabel 4.1. Gambaran Klinis Sampel

Kode Pasien	Usia (Tahun)	Jenis Kelamin	Komorbid	Jenis Sampel
NL	50	Wanita	Tidak ada	Saliva
YW	41	Wanita	Tidak ada	Saliva
SY	57	Wanita	Tidak ada	Saliva
WU	60	Pria	Tidak ada	Saliva
RN	25	Wanita	Tidak ada	Saliva
HR	56	Pria	Tidak ada	Saliva
NL	50	Wanita	Tidak ada	Sputum
YW	41	Wanita	Tidak ada	Sputum
SY	57	Wanita	Tidak ada	Sputum
WU	60	Pria	Tidak ada	Sputum
RN	25	Wanita	Tidak ada	Sputum
HR	56	Pria	Tidak ada	Sputum

Pada tabel 4.1 diatas sampel penelitian yang digunakan adalah 6 sampel saliva dsan 6 sampel sputum dari 4 (empat) orang wanita dan 2 (dua) orang pria.

4.2 Hasil pemeriksaan TCM

Pada tahap awal penelitian, semua sampel sputum diperiksa menggunakan alah TCM GeneXpert®. Hasil pemeriksaan TCM dari sampel sputum pasien yang diuji adalah sebagai berikut:

Tabel 4.2. Hasil Pemeriksaan TCM

Kode Pasien	Jenis Sampel	Hasil TCM	Nilai CT
NL	Sputum	MTB Detected High	16,3
YW	Sputum	MTB Detected High	16
SY	Sputum	MTB Detected Low	20,4
WU	Sputum	MTB Detected Low	25,2
RN	Sputum	MTB Not Detected	0
HR	Sputum	MTB Not Detected	0

Pada tabel 4.2 terdapat hasil pemeriksaan sampel sputum pasien menggunakan metode GeneXpert®® dimana kode pasien NL dan YW mendapatkan hasil TCM *MTB Detected High* dengan nilai CT 16,3 dan 16. Pada pasien dengan kode sampel SY dan WU mendapatkan hasil TCM *MTB Detected Low* dengan nilai CT 20,4 dan 25,2. Sedangkan kode pasien RN dan HR mendapatkan hasil TCM Negatif.

4.3 Hasil Isolasi DNA

Seluruh sampel sputum dan saliva dilakukan isolasi DNA menggunakan

Bacterial Sputum Extraction Kit untuk mendapatkan DNA yang nantinya akan dilakukan amplifikasi DNA.

Hasil Isolasi DNA dari semua sampel pasien di validasi terlebih dahulu menggunakan spektrofotometer untuk mengetahui kemurnian DNA sampel dan konsentrasi DNA dari hasil isolasi. Hasil dari pemeriksaan menggunakan spektrofotometer adalah sebagai berikut:

Tabel 4.3. Hasil isolasi DNA

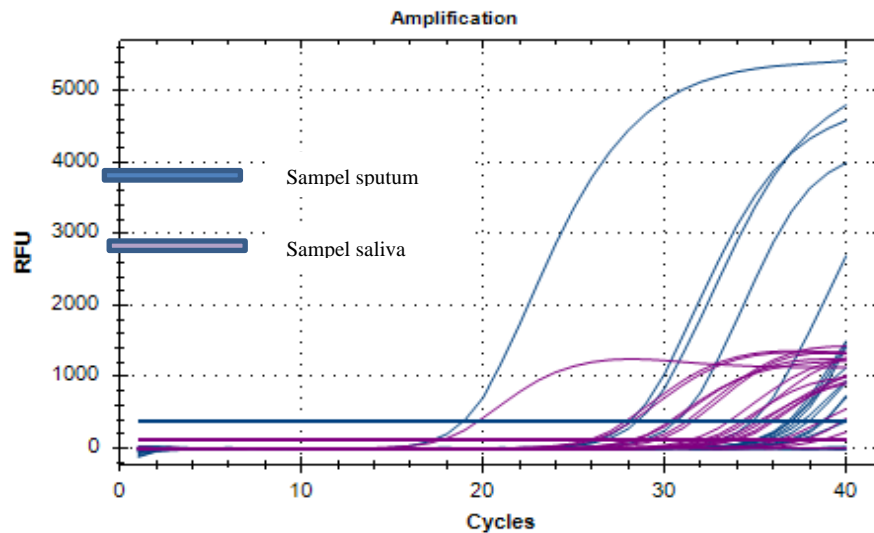
Kode Pasien	A260	A280	A260/A280	Conc.	Units
NL	0.136	0.100	1.364	6.815	ng/uL
NL	0.248	0.165	1.499	12.406	ng/uL
YW	0.801	0.487	1.646	40.074	ng/uL
YW	0.434	0.240	1.811	21.684	ng/uL
SY	0.156	0.067	2.335	7.781	ng/uL
SY	0.193	0.112	1.731	9.669	ng/uL
WU	0.197	0.094	2.099	9.844	ng/uL
WU	0.232	0.117	1.974	11.579	ng/uL
RN	0.352	0.191	1.842	17.614	ng/uL
RN	0.303	0.165	1.837	15.148	ng/uL
HR	0.456	0.256	1.778	22.792	ng/uL
HR	0.292	0.164	1.780	14.593	ng/uL

Pada tabel 4.3 seluruh sampel yang diperiksa menunjukkan adanya DNA yang diinginkan, ditunjukkan dengan hasil perbandingan absorbansi A260 dan A280 adalah sekitar 1,8 – 2,0 ng/uL. Hasil tersebut menunjukkan isolasi DNA MTB berhasil dan konsentrasi DNA lebih tinggi dibandingkan konsentrasi protein yang mengikat DNA tersebut.

4.4 Hasil Pemeriksaan

Sampel isolasi DNA selanjutnya dilakukan pemeriksaan amplifikasi DNA menggunakan alat qPCR kit TB DX dengan gen target MTP 64.

Hasil amplifikasi DNA adalah sebagai berikut:



Gambar 4.4 kurva hasil amplifikasi DNA pemeriksaan RT-qPCR dari sampel sputum dan saliva

Pada kurva diatas kurva yan berwarna biru merupakan kurva dari sampel sputum sedangkan kurva yang berwarna ungu adalah kurva dari sampel saliva. Kurva biru yang naik tajam adalah kurva sampel positif, sedangkan kurva ungu yang datar dan naik sangat lambat merupakan control negative. Kurva biru cenderung menghasilkan CT lebih rendah (kurva naik lebih cepat) karena konsentrasi *M. tuberculosis* lebih tinggi. Kurva ungu sering menghasilkan CT lebih tinggi atau bahkan amplifikasi lebih lambat karena jumlah bakteri lebih sedikit dibanding sputum.

Tabel 4.4 Hasil pemeriksaan RT-qPCR

Kode Pasien	Sampel	Hasil CT
NL	Saliva	34.86
YW	Saliva	28.51
SY	Saliva	38.72
WU	Saliva	N/A
RN	Saliva	37.25
HR	Saliva	N/A
NL	Sputum	28.13
YW	Sputum	30.66
SY	Sputum	38.85
WU	Sputum	N/A
RN	Sputum	37.60
HR	Sputum	37.01

Pada tabel 4.4 dari 12 sampel menunjukkan hasil pemeriksaan RT-qPCR pada sampel sputum dan saliva terdapat 9 sampel dengan hasil CT positif dan tiga sampel dengan hasil CT negative.

4.5. Perbandingan Hasil Pemeriksaan GeneXpert® dan RT-qPCR

Setelah dilakukan pemeriksaan amplifikasi DNA selanjutnya akan dibandingkan hasil pemeriksaan TCM dengan RT-qPcR. Data perbandingan pemeriksaan TCM dengan RT-qPCR adalah sebagai berikut:

Tabel 4.5 Perbandingan hasil pemeriksaan GeneXpert® dan RT-qPCR

Kode Pasien	Sampel	Hasil CT GeneXpert®	Hasil CT RT-qPCR
NL	Saliva	Tidak dilakukan	34.86
YW	Saliva	Tidak dilakukan	28.51
SY	Saliva	Tidak dilakukan	38.72
WU	Saliva	Tidak dilakukan	N/A
RN	Saliva	Tidak dilakukan	37.25
HR	Saliva	Tidak dilakukan	N/A
NL	Sputum	16,3	28.13
YW	Sputum	16	30.66
SY	Sputum	20,4	38.85
WU	Sputum	25,2	N/A
RN	Sputum	0	37.60
HR	Sputum	0	37.01

Dari tabel 4.5 terdapat perbedaan hasil CT pada sampel pasien WU dimana pada pemeriksaan TCM didapatkan CT 25,2 dan pada pemeriksaan q-PCR didapatkan CT negatif. Pada pasien RN hasil CT TCM negatif dan pada pemeriksaan qPCTR didapatkan CT 37,6. Pada pasien HR hasil CT TCM negatif dan pada pemeriksaan qPCTR didapatkan CT 37,01. Pemeriksaan GeneXpert® untuk sampel saliva tidak dapat dilakukan karena pemeriksaan GeneXpert® merupakan program pemerintah yang hanya mengakomodir pemeriksaan skrining MTB dengan sampel sputum.

BAB V

PEMBAHASAN

Tingginya angka tuberkulosis di Indonesia menjadikan pemerintah Indonesia membuat program penanggulangan TB agar angka kejadian dapat berkurang. Salah satu dari program yang dibuat oleh pemerintah adalah pemeriksaan Test Cepat Molekular (TCM) menggunakan GeneXpert® Rif Ultra dimana semua pasien dengan gejala tuberkulosis dilakukan pemeriksaan TCM untuk menegakkan diagnosa tuberkulosis. Pemeriksaan GeneXpert® menggunakan cartridge dengan metode Close sistem dimana proses isolasi DNA dan amplifikasi dilakukan didalam cartridge. Salah satu dari keunggulan pemeriksaan menggunakan GeneXpert® adalah hanya butuh waktu yang singkat untuk mendapatkan hasil. Namun untuk pemeriksaan GeneXpert® ini hanya terbatas pada pemeriksaan.

Pada pemeriksaan GeneXpert® sampel yang digunakan adalah sputum. Pada kondisi pasien yang tidak bergejala batuk sangat sulit untuk mendapatkan sampel sputum. Kebanyakan sampel yang diantar ke laboratorium adalah sampel saliva. Untuk itu dibutuhkan metode pemeriksaan lain yaitu RT-qPCR yang menggabungkan dua proses yaitu reaksi rantai polimerase (PCR) dan kuantifikasi waktu nyata (*real time*), yang dapat mendeteksi MTB dari sampel selain sputum seperti saliva. Oleh karena itu kita perlu membandingkan sensitivitas pemeriksaan saliva dan sputum menggunakan RT-qPCR dengan sampel sputum yang diperiksa menggunakan GeneXpert®.

Dalam diagnosis tuberkulosis, metode pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) dengan metode Test Cepat Molekuler (TCM) dan Real-Time Quantitative PCR (RT-qPCR) masing-masing memiliki keunggulan dan keterbatasan.

Metode TCM, seperti GeneXpert® MTB/RIF Ultra, menawarkan keunggulan dalam hal kemudahan penggunaan, kecepatan waktu pemeriksaan, dan kemampuan untuk mengidentifikasi resistansi rifampisin secara bersamaan. Pemeriksaan ini sangat cocok untuk digunakan di fasilitas kesehatan primer karena menghasilkan hasil dalam waktu kurang dari dua jam dan tidak memerlukan keahlian teknis yang tinggi. Selain itu, TCM sangat sensitif, terutama pada TB dengan beban bakteri sedang hingga tinggi. Namun demikian, keterbatasan TCM termasuk biaya per pemeriksaan yang relatif tinggi, kebutuhan akan kartrid khusus yang dilisensikan, dan sensitivitas yang menurun pada sampel dengan jumlah bakteri yang sangat rendah, seperti TB anak atau ekstrapulmoner.

Metode RT-qPCR berbasis gen MPT64 memiliki sensitivitas yang tinggi bahkan pada beban bakteri yang rendah, dan memiliki limit deteksi yang lebih besar daripada TCM dalam beberapa kondisi. Selain itu, RT-qPCR memungkinkan pengolahan sampel dalam jumlah besar secara bersamaan, kemampuan untuk memilih target genetik yang tepat, dan kemampuan untuk mengoptimalkan reaksi. Selain itu, RT-qPCR dapat diterapkan pada berbagai jenis spesimen, seperti saliva, sputum, dan cairan tubuh lainnya. Namun, jika dilakukan secara manual, pemeriksaan ini memerlukan fasilitas laboratorium molekuler yang lengkap, keahlian teknis dalam ekstraksi DNA dan pengaturan PCR, dan waktu yang sedikit lebih lama untuk menyelesaikannya dibandingkan dengan TCM. Dengan mempertimbangkan manfaat dan kekurangan,

kombinasi penggunaan TCM untuk diagnosis cepat dan RT-qPCR untuk konfirmasi kasus-kasus dengan hasil meragukan dapat menjadi strategi terbaik untuk meningkatkan upaya diagnosis tuberkulosis, terutama di era pengendalian tuberkulosis global saat ini.

Pada penelitian ini peneliti menggunakan Kit TB DX untuk mendeteksi adanya MTB pada sampel saliva dan sputum. Kit TB-Dx merupakan berbasis Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-qPCR) yang dirancang untuk mendeteksi adanya DNA MTB secara spesifik dan cepat. Kit TB-DX memiliki prinsip kerja yaitu amplifikasi target genetik spesifik gen MPT64. Gen MPT64 adalah penanda spesifik MTB dan tidak ditemukan pada *non* MTB. Amplifikasi DNA dilakukan menggunakan primer spesifik dan probe berlabel fluoresen yang menghasilkan sinyal cahaya dan dipantau secara *real-time* selama proses PCR.

Kit TB-Dx memiliki sensitivitas tinggi sehingga dapat mendeteksi bakteri dalam jumlah yang kecil dan memiliki spesifisitas tinggi terhadap MTB, serta mampu mendeteksi MTB dalam waktu singkat yaitu sekitar 2 jam setelah proses ekstraksi DNA. TB-Dx juga dapat digunakan pada semua seri alat RT-qPCR. dengan menggunakan gen target MPT64, TB-Dx dapat meningkatkan akurasi diagnosis TB, baik dari spesimen sputum maupun non-sputum seperti saliva. Dengan demikian TB-Dx dapat menjadi pilihan metode molekuler yang efektif untuk membantu diagnosis cepat MTB, khususnya pada kasus dengan jumlah bakteri yang rendah atau pasien dengan gejala klinis minimal.

Pada tabel 4.2 terdapat hasil pemeriksaan sampel sputum pasien menggunakan metode GeneXpert® dimana kode pasien NL dan YW mendapatkan hasil TCM *MTB Detected High* dengan nilai CT 16,3 dan 16. Pada pasien dengan kode sampel SY dan WU mendapatkan hasil TCM *MTB Detected Low* dengan nilai CT 20,4 dan 25,2. Sedangkan kode pasien RN dan HR mendapatkan hasil TCM Negatif.

Pada tabel 4.3 terdapat hasil isolasi DNA MTB pada sampel sputum dan saliva yang diperiksa menggunakan spektrofotometer. Seluruh sampel yang diperiksa menunjukkan adanya DNA yang diinginkan, ditunjukkan dengan hasil perbandingan absorbansi A260 dan A280 adalah sekitar 1,8 – 2,0 ng/uL. Hasil tersebut menunjukkan isolasi DNA MTB berhasil.

Pada tabel 4.5 nilai CT pemeriksaan TCM sampel sputum pasien dengan kode NL adalah 16,3, sedangkan nilai CT pemeriksaan RT-qPCR sampel sputumnya adalah 28,13 dan pada sampel salivanya adalah 28,13. Hal ini menunjukkan bahwa hasil *MTB Positive High* pada pemeriksaan TCM tidak didukung pada pemeriksaan RT-qPCR walaupun hasilnya tetap positif. Begitu juga nilai CT pemeriksaan TCM sampel sputum pasien dengan kode YW adalah 16, sedangkan nilai CT pemeriksaan RT-qPCR sampel sputumnya adalah 30,66 dan pada sampel salivanya adalah 28,51. Hal ini menunjukkan bahwa hasil *MTB Positive High* pada pemeriksaan TCM tidak didukung pada pemeriksaan RT-qPCR walaupun hasilnya tetap positif. Hal ini mungkin terjadi karena penyimpanan sampel yang sudah lama, sesuai dengan penelitian (Salfer et al., 2023) yang menyatakan bahwa jumlah DNA pada air liur menurun drastis ketika dilakukan penundaan sentrifugasi pada sampel diatas 24 jam.

Pada tabel 4.5 nilai CT pemeriksaan TCM sampel sputum pasien dengan kode SY adalah 20,4, sedangkan nilai CT pemeriksaan RT-qPCR sampel sputumnya adalah 38,85 dan pada sampel salivanya adalah 38,72. Hal ini menunjukkan bahwa hasil *MTB Positive Low* pada pemeriksaan TCM juga didukung pada pemeriksaan RT-qPCR baik pada sampel sputum dan juga sampel saliva. Hal ini juga mendukung hasil penelitian dari (Byanyima et al., 2022) yang menyebutkan bahwa “pengujian molekuler air liur untuk diagnosis TB aktif dapat dilakukan dan hampir sama sensitifnya dengan pengujian molekuler dahak dalam kondisi beban TB tinggi”.

Pada tabel 4.5 nilai CT pemeriksaan TCM sampel sputum pasien dengan kode WU adalah 25,2, sedangkan nilai CT pemeriksaan RT-qPCR sampel sputumnya dan salivanya adalah negatif . Hal ini menunjukkan bahwa hasil *MTB Positive Low* pada pemeriksaan TCM tidak didukung pada pemeriksaan RT-qPCR. Hal ini bisa terjadi karena kurangnya homogenisasi pada isolasi sampel. Pada penelitian (Anissa et al., 2023) dijelaskan bahwa proses homogenisasi ini penting untuk memastikan bahwa sel-sel dalam sampel terdisrupsi secara efisien, sehingga DNA dapat diekstraksi dengan optimal untuk analisis PCR.

Pada tabel 4.5 nilai CT pemeriksaan TCM sampel sputum pasien dengan kode RN adalah negatif, sedangkan nilai CT pemeriksaan RT-qPCR sampel sputum adalah 37,60 dan salivanya adalah 37,25. Hal ini menunjukkan bahwa hasil *MTB Not Detected* pada pemeriksaan TCM tidak didukung pada pemeriksaan RT-qPCR. Hal ini terjadi karena sensitivitas pemeriksaan RT-qPCR lebih tinggi untuk mendeteksi MTB dibandingkan dengan pemeriksaan GeneXpert®. Pada kit TB DX tercantum bahwa

nilai *cutoff* CT pemeriksaan RT-qPCR adalah <38. Sedangkan nilai *cutoff* CT pada pemeriksaan GeneXpert® adalah 25. Hal ini juga mendukung hasil penelitian dari (Lv et al., 2017) yang menyatakan bahwa” RT-qPCR dapat digunakan sebagai metode tambahan untuk diagnosis etiologi tuberkulosis”.

Pada tabel 4.5 nilai CT pemeriksaan TCM sampel sputum pasien dengan kode HR adalah negatif, sedangkan nilai CT pemeriksaan RT-qPCR sampel sputum adalah 37,01 dan salivanya adalah negatif. Hal ini menunjukkan bahwa hasil *MTB Not Detcted* pada pemeriksaan TCM tidak didukung pada pemeriksaan RT-qPCR dengan sampel saliva. Hal ini terjadi karena sensitivitas pemeriksaan RT-qPCR lebih tinggi untuk mendeteksi MTB dibandingkan dengan pemeriksaan GeneXpert®. Selain itu pada sampel sputum pasien mengandung sedikit bakteri MTB, sedangkan pada sampel salivanya tidak mengandung bakteri MTB.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. CT Value yang didapat dari pemeriksaan sampel saliva dan sputum menggunakan metode pemeriksaan TCM dengan alat Genexpert® dan metode RT-qPCR dengan kit TB-Dx terdapat perbedaan. Hal tersebut terjadi karena adanya proses penundaan pemeriksaan sampel dengan metode RT-qPCR
2. Bakteri MTB pada sampel saliva dapat dideteksi menggunakan metode RTqPCR dengan kit TB DX, ditandai dengan didapatkan CT Value 34,86, 28,51 dan 38,72.
3. Pada pemeriksaan sampel saliva dan sputum menggunakan metode RT-qPCR sama-sama didapatkan CT Value.

6.2 Saran

1. Disarankan pada peneliti selanjutnya agar meneliti lebih lanjut sensitivitas pemeriksaan RT-qPCR dalam mendeteksi MTB dengan jumlah sampel yang lebih banyak
2. Disarankan untuk perlakuan sampel agar dapat dilakukan bersamaan atau dalam waktu yang berdekatan.
3. Jika memang harus menunda pemeriksaan, disarankan untuk menyimpan sampel yang sudah di ekstra ksi dalam bentuk DNA

DAFTAR PUSTAKA

- Afzal, A. (2020). Molecular diagnostic technologies for COVID-19: Limitations and challenges. *Journal of Advanced Research*, 26, 149–159.
<https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.08.002>
- Anissa, R. K., Lisdiana, L., & Widyayanti, A. T. (2023). Optimasi Metode Nested PCR untuk Deteksi *Vibrio parahaemolyticus* AHPND pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *LenteraBio : Berkala Ilmiah Biologi*, 13(1), 1–13.
<https://doi.org/10.26740/lenterabio.v13n1.p1-13>
- Babafemi, E. O., Cherian, B. P., Banting, L., Mills, G. A., & Ngianga, K. (2017). Effectiveness of real-time polymerase chain reaction assay for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* in pathological samples: A systematic review and meta-analysis. *Systematic Reviews*, 6(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s13643-017-0608-2>
- Behr, M. A., Kaufmann, E., Duffin, J., Edelstein, P. H., & Ramakrishnan, L. (2021). Latent tuberculosis: Two centuries of confusion. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 204(2), 142–148.
<https://doi.org/10.1164/rccm.202011-4239PP>
- Borisov, S., Danila, E., Maryandyshev, A., Dalcolmo, M., Miliauskas, S., Kuksa, L., Manga, S., Skrahina, A., Diktanas, S., Codecasa, L. R., Aleksa, A., Bruchfeld, J., Koleva, A., Piubello, A., Udwardia, Z. F., Akkerman, O. W., Belilovski, E., Bernal, E., Boeree, M. J., ... Migliori, G. B. (2019). Surveillance of adverse events in the treatment of drug-resistant tuberculosis: First global report. *European Respiratory Journal*, 54(6), 1–14.
<https://doi.org/10.1183/13993003.01522-2019>
- Byanyima, P., Kaswabuli, S., Musisi, E., Nabakiibi, C., Zawedde, J., Sanyu, I., Sessolo, A., Andama, A., Worodria, W., Huang, L., & Davis, J. L. (2022). Feasibility and Sensitivity of Saliva GeneXpert® MTB/RIF Ultra for Tuberculosis Diagnosis in Adults in Uganda. *Microbiology Spectrum*, 10(5).
<https://doi.org/10.1128/spectrum.00860-22>
- Gunasekera, K. S., Vonasek, B., Oliwa, J., Triasih, R., Lancioni, C., Graham, S. M., Seddon, J. A., & Marais, B. J. (2022). Diagnostic Challenges in Childhood Pulmonary Tuberculosis—Optimizing the Clinical Approach. *Pathogens*, 11(4), 1–11. <https://doi.org/10.3390/pathogens11040382>
- Hoel, I. M., Sviland, L., Syre, H., Dyrhol-Riise, A. M., Skarstein, I., Jebsen, P., Jørstad, M. D., Wiker, H., & Mustafa, T. (2020). Diagnosis of extrapulmonary tuberculosis using the MPT64 antigen detection test in a high-income low tuberculosis prevalence setting. *BMC Infectious Diseases*, 20(1), 1–11.
<https://doi.org/10.1186/s12879-020-4852-z>
- Kemenkes RI. (2023). Profil Kesehatan Indo-nesia. In *Pusdatin.Kemenkes.Go.Id*.
<https://www.kemkes.go.id/downloads/resources/download/pusdatin/profil-kesehatan-indonesia/Profil-Kesehatan-2021.pdf>
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2023). *Petunjuk Teknis Pemeriksaan Tuberculosis Menggunakan Tes Cepat Molekuler GeneXpert®*. 241.

- https://tbindonesia.or.id/wp-content/uploads/2023/12/2023_Buku-Petunjuk-Teknis-Pemeriksaan-TBC-Menggunakan-Alat-TCM-GeneXpert®_2023.pdf
- Khambati, N., Olbrich, L., Ellner, J., Salgame, P., Song, R., & Bijker, E. M. (2021). Host-Based Biomarkers in Saliva for the Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis in Children: A Mini-Review. *Frontiers in Pediatrics*, 9(1), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fped.2021.756043>
- Lv, Z., Zhang, M., Zhang, H., & Lu, X. (2017). Utility of Real-Time Quantitative Polymerase Chain Reaction in Detecting Mycobacterium tuberculosis. *BioMed Research International*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/1058579>
- Meregildo-Rodriguez, E. D., Asmat-Rubio, M. G., & Vásquez-Tirado, G. A. (2023). Droplet digital PCR vs. quantitative real time-PCR for diagnosis of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis: systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Medicine*, 10(August), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1248842>
- Nasywa, Y., Suharti, N., & Katar, Y. (2022). Sensitivitas dan Spesifisitas GeneXpert® pada Sputum Pasien Suspek Tuberkulosis Paru. *Jurnal Ilmu Kesehatan Indonesia*, 3(2), 125–130. <https://doi.org/10.25077/jikesi.v3i2.839>
- Perhimpunan Dokter Paru Indonesia. (2021). Tuberkulosis Pedoman Diagnosis dan Penatalaksanaan di Indonesia. In *Perhimpunan Dokter Paru Indonesia* (Vol. 001, Issue 2014).
- Raj, A., Singh, N., Gupta, K. B., Chaudhary, D., Yadav, A., Chaudhary, A., Agarwal, K., Varma-Basil, M., Prasad, R., Khuller, G. K., & Mehta, P. K. (2016). Comparative evaluation of several gene targets for designing a Multiplex-PCR for an early diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. *Yonsei Medical Journal*, 57(1), 88–96. <https://doi.org/10.3349/ymj.2016.57.1.88>
- Salfer, B., Havo, D., Kuppinger, S., Wong, D. T. W., Li, F., & Zhang, L. (2023). Evaluating Pre-Analytical Variables for Saliva Cell-Free DNA Liquid Biopsy. *Diagnostics*, 13(10), 1–10. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13101665>
- Tang, P., Liu, R., Qin, L., Xu, P., Xiong, Y., Deng, Y., Lv, Z., Shang, Y., Gao, X., Yao, L., Zhang, R., Feng, Y., Ding, C., Jing, H., Li, L., Tang, Y.-W., & Pang, Y. (2023). Accuracy of Xpert® MTB/RIF Ultra test for posterior oropharyngeal saliva for the diagnosis of paucibacillary pulmonary tuberculosis: a prospective multicenter study. *Emerging Microbes & Infections*, 12(1). <https://doi.org/10.1080/22221751.2022.2148564>
- WHO. (2020). WHO consolidated guidelines on tuberculosis Module 2: Systemic screening for tuberculosis disease. In *World Health Organization*.
- Widodo, W., Purlinda, D. E., & Riadi, A. (2022). Comparative Examination of Conventional Direct Sputum and Indirect Sedimentation on Cytospin Tuberculosis Patient Sputum Samples. *Jurnal Riset Kesehatan*, 11(1), 60–66. <https://doi.org/10.31983/jrk.v11i1.8406>

Lampiran 1: Surat Permohonan Penelitian ke Puskesmas Andalas



Your Dream is Our Mission

Padang, 8 November 2024

No : 709/ FIKes-UPERTIS/XI/2024
Perihal : Izin Penelitian

Kepada Yth,
Ka.UPT Puskesmas Andalas Kota Padang
Di
Tempat

Bersama ini kami sampaikan kepada Bapak/Ibu bahwa dalam tahap penyelesaian Pendidikan di Program Studi D IV Analisis Kesehatan /Teknologi Laboratorium Medik Universitas Perintis Indonesia, maka kepada mahasiswa diwajibkan untuk membuat skripsi dibidang kesehatan.

Sehubungan dengan hal tersebut diatas, kami mohon bantuan Bapak/Ibu untuk dapat memberikan informasi data dari instansi Bapak/Ibu pimpinan. Adapun identitas mahasiswa kami yaitu :

Nama	: Poeti Megawati
Nim	: 2310263542
Judul	:Sensitivitas Metode TCM dan RT q-PCR dalam Analisis Sampel Saliva Untuk Diagnostik Infeksi Mycobacterium tuberculosis
Jadwal Penelitian	: November 2024 - Selesai
Tempat Penelitian	: UPT Puskesmas Andalas Kota Padang

Untuk kelancaran penelitian mahasiswa yang bersangkutan, maka kami mohon Bapak/Ibu agar dapat memberikan izin penelitian sesuai dengan topik di atas.

Demikianlah kami sampaikan atas perhatian dan kerjasamanya diucapkan terimakasih.

A.n Dekan
Sekretaris Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan



Wilda Laila, SKM. M.Biomed
NIK : 10103583062

Tembusan:
1. Arsip

Kampus I - Kota Padang
Jl. Adinegoro KM 17 Simp. Kalumpang Padang
±200m ke arah ByPass Kampung Jambak,
Lubuk Buaya, Padang, Sumatera Barat - Indonesia
Telp : (0751) 481992 | Fax : (0751) 481962

Kampus II - Bukittinggi
Jl. Kusuma Bakhti
Komp. Pemda II Gulai Bancha
Bukittinggi, Sumatera Barat - Indonesia
Telp/Fax : (0752) 34613



universitas_perintis_indonesia
universitas_perintis_indonesia
upertisypp@gmail.com
stikesperintis.ac.id
stifi-padang.ac.id

Lampiran 2: Surat Permohonan Penelitian ke PDRPI UNAND Padang



Your Dream is Our Mission

Padang, 8 November 2024

No : 709/ FIKes-UPERTIS/XI/2024
Perihal : Izin Penelitian

Kepada Yth,

Ka. Pusat Diagnostik dan Riset Penyakit Infeksi Universitas Andalas, Padang

Di

Tempat

Bersama ini kami sampaikan kepada Bapak/Ibu bahwa dalam tahap penyelesaian Pendidikan di Program Studi D IV Analis Kesehatan /Teknologi Laboratorium Medik Universitas Perintis Indonesia, maka kepada mahasiswa diwajibkan untuk membuat skripsi dibidang kesehatan.

Sehubungan dengan hal tersebut diatas, kami mohon bantuan Bapak/Ibu untuk dapat memberikan informasi data dari instansi Bapak/Ibu pimpinan. Adapun identitas mahasiswa kami yaitu :

Nama	: Poeti Megawati
Nim	: 2310263542
Judul	: Sensitivitas Metode TCM dan RT q-PCR dalam Analisis Sampel Saliva Untuk Diagnostik Infeksi Mycobacterium tuberculosis
Jadwal Penelitian	: November 2024 - Selesai
Tempat Penelitian	: Pusat Diagnostik dan Riset Penyakit Infeksi Universitas Andalas, Padang

Untuk kelancaran penelitian mahasiswa yang bersangkutan, maka kami mohon Bapak/Ibu agar dapat memberikan izin penelitian sesuai dengan topik di atas.

Demikianlah kami sampaikan atas perhatian dan kerjasamanya diucapkan terimakasih.

A.n Dekan

Sekretaris Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan



Wilda Laila, SKM. M.Biomed

NIK : T0103583062

Tembusan:

1. Arsip

Kampus I - Kota Padang

Jl. Adinegoro KM 17 Simp. Kalumpang Padang
± 200m ke arah ByPass Kampung Jambak,
Lubuk Buaya, Padang, Sumatera Barat - Indonesia
Telp : (0751) 481992 | Fax : (0751) 481962

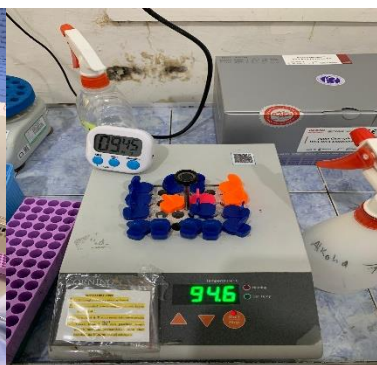
Kampus II - Bukittinggi

Jl. Kusuma Bakhti
Komp. Pemda II Gulai Bancha
Bukittinggi, Sumatera Barat - Indonesia
Telp/Fax : (0752) 34613



universitas_perintis_indonesia
universitas_perintis_indonesia
upertisypp@gmail.com
stikesperintis.ac.id
stfi-padang.ac.id

Lampiran 3: Dokumentasi Alat, Bahan, Reagensia dan Kegiatan Penelitian



Lampiran 4: Tata Cara Ekstraksi DNA

CRown Lab® Protokol CRown_Lab® Bacterial Sputum Extraction Kit

1. Tujuan Penggunaan
Crown Lab® Bacterial Sputum Extraction Kit merupakan alat yang menyediakan metode untuk isolasi DNA atau RNA bakteri atau virus dari spesimen sputum dan dapat menghasilkan isolat berupa DNA atau RNA yang berkualitas. Reagen ini dilengkapi dengan buffer khusus yang secara efektif dapat mencairkan sputum sehingga memudahkan dalam tahapan lisis serta dilengkapi dengan system penyangga khusus yang memfasilitasi lisis partikel bakteri lengkap untuk isolasi DNA yang efisien dari sampel sputum. DNA berkualitas tinggi yang terisolasi siap untuk semesta aplikasi seperti Next-Gen Sequencing, Hybridization based dan deteksi RT-PCR.

2. Pendahuluan
Ekstraksi DNA dari sampel sputum melibatkan serangkaian langkah untuk memisahkan dan memurnikan molekul-molekul DNA dari sel-sel dan bahan-bahan biologis lainnya. Dalam pemeriksaan bakteri yang terdapat pada sputum pada umumnya digunakan metode konvensional seperti pemeriksaan mikroskopik basil tahan asam (BTA) dan pemeriksaan kultur. Pemeriksaan mikroskopik cukup cepat dan ekonomis akan tetapi sensitivitas dan spesifitasnya masih kurang sedangkan pemeriksaan kultur memerlukan waktu yang cukup lama. Sedangkan identifikasi cepat pada mikrobakteria merupakan hal yang sangat penting karena hal ini akan sangat membantu pada penanganan awal dan tepat untuk pasien. Oleh karena itu Crown Lab® Bacterial Sputum Extraction Kit dirancang sebagai kit ekstraksi sputum dengan langkah yang lebih cepat dan menghasilkan isolate DNA atau RNA yang berkualitas.

3. Komponen KIT

Komponen	Volume	Jumlah
Lysis Buffer	25 ml	1
Wash Buffer	55 ml	1
Elution Buffer	55 ml	1

4. Spesifikasi

- Tipe Sampel : Sputum
- Volume Sampel : 200 µl
- Volume Lysis Buffer : 200 µl
- Volume Wash Buffer : 500 µl
- Volume Elution Buffer : 500 µl
- Kemasan : Next-Gen Sequencing, Hybridization-based, dan Deteksi RT-PCR
- Alat : Vortex, Sentrifuge, Heating blocks.

5. Protokol

5.1 Preparasi

- Sampel harus diperlakukan sebagai potensial biohazards, karena itu penting untuk memperhatikan pemakaian Alat Pelindung Diri (APD) dengan baik dan lengkap
- Sebelum bekerja, hidupkan Heating blocks dengan suhu 95°C terlebih dahulu. Kemudian siapkan sampel sputum sebanyak 200µl.

Lysis

- Masukkan sampel sputum sebanyak 200 µl ke dalam mikrotube steril, kemudian tambahkan Lysis Buffer sebanyak 200 µl. Vortex selama 5 sampai 10 detik hingga sputum tidak kental.
- Kemudian sentrifus pada kecepatan 8.000 rpm selama 10 menit
- Buang Supernatan dan tinggalkan pelet di dasar mikrotube

Washing

- Tambahkan Wash Buffer sebanyak 500 µl kemudian vortex hingga pelet larut
- Kemudian sentrifus pada kecepatan 14.000 rpm selama 5 menit
- Buang Supernatan dan tinggalkan pelet di dasar mikrotube

Elution

- Tambahkan Elution Buffer sebanyak 300 µl kemudian vortex hingga pelet larut
- Inkubasi pada suhu 95°C selama 10 menit
- Kemudian sentrifus pada kecepatan 14.000 rpm selama 5 menit
- Pindahkan supernatan ke mikrotube steril baru, dan kemudian isolate dapat disimpan pada suhu -20°C

6. Penjelasan Simbol

IVD	Pengguna: Medis Diagnostik In Vitro	Daftar Kontrol Penggunaan
REF	Waktu Katalog	Tanggal Produksi
LOT	Production code	Tanggal Kadaluarsa
Batas Peringatan (Batas Rantai)		Catatan Utama

PT. Crown Teknologi Indonesia
Jl. By Pass KM 17 Kel. Koto Panjang Distrik Koto
Koto Tangah, Padang, Sumatera Barat Indonesia

0711-8640432
crownlab@indonesia.com
http://crownlab.com/ID

Lampiran 5: Protokol TCM

Spesimen dahak dapat berupa dahak yang dikeluarkan langsung atau dengan cara invasif (seperti induksi dan *suction*). Pengolahan spesimen dahak dapat dilakukan di tempat yang sama untuk pengolahan dan pewarnaan mikroskopis. Apabila di laboratorium pelaksana TCM GeneXpert® tersedia *Biological Safety Cabinet* (BSC), maka direkomendasikan untuk dapat mengolah spesimen di dalam BSC.

Berikut adalah prosedur pengolahan spesimen dahak:

- a. Beri label identitas pada setiap kartrid. Identitas spesimen dapat ditempel atau ditulis pada bagian sisi kartrid. JANGAN memberikan label pada bagian *barcode*.
- b. Bukalah penutup pot dahak, tambahkan *Sample Reagent* yang sudah tersedia sebanyak 2 kali volume spesimen.



Gambar 5.3 Sample Reagent dan Prosedur Umum Pengolahan Spesimen

1. Campur *Sample Reagent* dengan spesimen, kocok, dan inkubasi
2. Masukkan spesimen ke dalam kartrid
3. Masukkan kartrid yang sudah berisi spesimen ke dalam alat TCM GeneXpert®

Catatan:

- Satu *Sample Reagent* untuk pengolahan 1 spesimen dahak.
 - Apabila volume dahak >4 ml, maka disarankan untuk membagi spesimen menjadi 2 bagian dan **HARUS dilakukan dalam BSC**. Satu bagian digunakan untuk pemeriksaan TCM, satu bagian lainnya disimpan dalam pot dahak baru sebagai cadangan.
- c. Tutup kembali pot dahak, kemudian kocok dengan kuat sampai campuran dahak dan *Sample Reagent* menjadi homogen.
 - d. Diamkan selama 10 menit pada suhu ruang.
 - e. Kocok kembali campuran, lalu diamkan selama 5 menit.
 - f. Bila masih ada gumpalan, kocok kembali agar campuran dahak dan *Sample Reagent* menjadi homogen sempurna dan biarkan selama 5 menit pada suhu kamar.

- g. Buka penutup kartrid, kemudian buka tempat penampung spesimen. Gunakan pipet yang disediakan untuk memindahkan spesimen dahak yang telah diolah sebanyak 2 ml (sampai garis batas pada pipet) ke dalam kartrid secara perlahan-lahan untuk mencegah terjadinya gelembung yang bisa menyebabkan eror.
- h. Tutup kartrid secara perlahan dan masukan kartrid ke dalam alat TCM GeneXpert®.

Catatan:

- Spesimen yang sudah diolah dan masuk ke dalam kartrid harus segera dimasukkan ke dalam alat TCM GeneXpert®. Saat mengolah beberapa spesimen dalam satu waktu, pengisian spesimen ke dalam kartrid dilakukan satu persatu. Tutup kartrid terlebih dahulu sebelum mengisi kartrid berikutnya.
- Jika terdapat sisa spesimen yang telah diolah, spesimen tersebut dapat disimpan pada suhu berikut jika dibutuhkan pemeriksaan ulang:

Jika menggunakan kartrid MTB/RIF

- 35°C (bertahan sampai **4 jam**)

Jika menggunakan kartrid MTB/RIF Ultra dan MTB/XDR

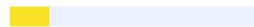
- 35°C (bertahan sampai **2,5 jam**)
- 2-8°C (bertahan sampai **4 jam**)

Lampiran 6: Hasil Turnitin



Plagiarism Checker X - Report

Originality Assessment

16%**Overall Similarity**

Date: May 19, 2025
Matches: 1156 / 7302 words
Sources: 40

Remarks: Moderate similarity detected, consider enhancing the document if necessary.

Verify Report:
Scan this QR Code



Lampiran 7: Kartu Bimbingan

KARTU BIMBINGAN PROPOSAL & SKRIPSI

Nama : Poeti Megawati

NIM : 2310263542

Jalur : RPL / JASUS

JUDUL

**SENSITIVITAS METODE TEST CEPAT
MOLEKULER (TCM) GeneXpert® DAN REAL TIME
QUANTITATIVE POLIMERASE CHAIN REACTION
(RT-qPCR) DALAM ANALISIS SAMPEL SALIVA
UNTUK DIAGNOSTIK INFEKSI *Mycobacterium
tuberculosis***

PEMBIMBING I : Dr.rer.nat.Ikhwan Resmala Sudji, S.Si, M. Si

PEMBIMBING II : M Diki Juliandi, M.Biotek

PENGUJI : Prof. Dr. Suryani, M.Si



**PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN/TLM
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA**



No.	Hari/ Tanggal	S materi konsultasi	Paraf Pembimbing/ Penguji	Keterangan/ Perbaikan
1	Kamis 25 Juli 2024	Brain Storming	Dr. Fer. nat. Khumar RS, S.Si, M.Si	
2			M. Diki Julianti M. Biokter	
3	Rabu 3 Juli 2024	JUDUL : Sensitivitas gPCR dengan data diagnosis M. TB pada sampel saliva	Dr. Fer. nat. Khumar RS, S.Si, M.Si	
4	Sabtu 9 Agustus 2024	- Jumlah sampel pemeriksaan - Rumusan Masalah	Dr. Fer. nat. Khumar RS, S.Si, M.Si	
5	Senin 5 Agustus '24	- Tujuan Umum - Tujuan Khusus	M. Diki Julianti, M. Biokter	
6	Sabtu 10 Agustus '24	Judul	M. Diki Julianti M. Biokter	Perbaikan Judul
7	Jumat 16 Agustus '24	Artikel referensi	Dr. Fer. nat. Khumar RS, S.Si, M.Si	
			M. Diki Julianti M. Biokter	

No.	Hari/ Tanggal	Materi Konsultasi	Paraf Pembimbing/ Penguji	Keterangan/ Perbaikan
7	Selasa 20 Agustus '24	Metode penelitian & Daftar pustaka	Dr. rer. nat. Ikhwan RS, S.Si, M.Si	ganti keangko operasional
8	Selasa 3 Sept 2024	Seminar Proposal ACC	Dr. rer. nat. Ikhwan RS, S.Si, M.Si	
9	Rabu 18 sept 2024	Seminar Proposal ACC	M. Didi Julianto M. Berbek	
10	Senin 13 Jan 2024	Pengantar Praktikum	Dr. rer. nat. Ikhwan RS, S.Si, M.Si	
11	Selasa 21 Jan 2024	Penjelasan hasil penelitian	Dr. rer. nat. Ikhwan RS, S.Si, M.Si	
12	Sabtu 25 Jan 2025	BAB Pembahasan dan Kesimpulan	Dr. rer. nat. Ikhwan RS, S.Si, M.Si	
13	Kamis 30 Jan 2025	Kompi ACC	Dr. rer. nat. Ikhwan RS, S.Si, M.Si	
14	29 Jan 2025	Kompi ACC	M. Didi Julianto M. Berbek	

[illegible]