

**SKRIPSI**

**IDENTIFIKASI BAKTERI *ESCHERICHIA COLI*,  
*ENTEROBACTER CLOACAE*, *HAEMOPHILUS  
INFLUENZAE*, DAN *PSEUDOMONAS  
AERUGINOSA* DENGAN METODE  
MULTIPLEX RT-PCR PADA  
SAMPEL SALIVA PASIEN  
TB PARU**



**Oleh :  
SHINTIA OKTAVIA  
NIM: 2110262089**

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

**SKRIPSI**

**IDENTIFIKASI BAKTERI *ESCHERICHIA COLI*,  
*ENTEROBACTER CLOACAE*, *HAEMOPHILUS  
INFLUENZAE*, DAN *PSEUDOMONAS  
AERUGINOSA* DENGAN METODE  
MULTIPLEX RT-PCR PADA  
SAMPEL SALIVA PASIEN  
TB PARU**

Skripsi ini diajukan sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar  
Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis

Oleh :  
**SHINTIA OKTAVIA**  
**NIM: 2110262089**

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



a). Tempat/Tgl: Lubuk Gadang, 19-10-2002; b). Nama Orang Tua: (Ayah) Muliadi (Ibu) Ema Suruani; c). Program Studi: Sarjana Terapan TLM; d). Fakultas Ilmu Kesehatan; e). NIM: 2110262089; f). Tgl Lulus : 07 Agustus 2025; g). Predikat lulus: Sangat Memuaskan; h). IPK : 3,55; i). Lama Studi: 4 Tahun; j). Alamat: Desa Lubuk Gadang, Kec Lubuk Pinang, Kab Mukomuko, Bengkulu

**IDENTIFIKASI BAKTERI *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Haemophilus influenza*, *Pseudomonas aeruginosa* DENGAN METODE MULTIPLEX RT-PCR PADA SAMPEL SALIVA PASIEN TB PARU**

**SKRIPSI**

Oleh: Shintia Oktavia

Pembimbing: Dr. rer. nat. Ikhwani Resmala Sudji, S.Si, M.Si, M. Diki Juliandi, M.Biotek

**ABSTRAK**

Tuberkulosis (TB) paru merupakan penyakit infeksi menular yang masih menjadi beban kesehatan, terutama di negara berkembang seperti Indonesia. Selain infeksi primer oleh *Mycobacterium tuberculosis*, pasien TB paru juga berisiko mengalami infeksi sekunder akibat bakteri oportunistik seperti *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Haemophilus influenzae*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Infeksi sekunder ini dapat memperparah gejala dan memperlama pengobatan. Penelitian ini bertujuan mendeteksi keberadaan keempat bakteri tersebut dalam sampel saliva pasien TB paru menggunakan metode Multiplex RT-PCR. Metode ini memungkinkan deteksi simultan beberapa target genetik dalam satu reaksi dengan sensitivitas dan spesifisitas tinggi. Saliva dipilih karena non-invasif, mudah diambil, dan representatif terhadap flora saluran napas atas. Penelitian dilakukan pada Mei 2025 di Laboratorium Pusat Diagnostik dan Riset Penyakit Infeksi FK Universitas Andalas, dengan empat sampel saliva dari pasien TB paru yang telah dikonfirmasi positif. Proses meliputi isolasi DNA, pengukuran kemurnian, dan deteksi dengan kit Crown Lab® Pneumoplex 3.0. Hasil menunjukkan *H. influenzae* terdeteksi pada seluruh sampel, sementara *E. coli* hanya muncul pada satu sampel dengan nilai Ct tinggi. *E. cloacae* dan *P. aeruginosa* tidak terdeteksi. Kesimpulannya, Multiplex RT-PCR efektif untuk mendeteksi infeksi sekunder, dan saliva merupakan sampel yang valid.

**Kata Kunci:** Tuberkulosis paru, infeksi sekunder, saliva, Multiplex RT-PCR.

Skrripsi ini telah di pertahankan di depan sidang penguji dan dinyatakan lulus pada 07 agustus 2025

|                 |                                                 |                            |                         |
|-----------------|-------------------------------------------------|----------------------------|-------------------------|
| Tanda Tangan    | 1.                                              | 2.                         | 3.                      |
| Shintia Oktavia | Dr. rer. nat. Ikhwani 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

Tanda Tangan



a). Place/Date of Birth: Lubuk Gadang, October 19, 2002; b). Parents' Names: (Father) Muliadi, (Mother) Ema Suruani; c). Study Program: TLM Applied Bachelor; d) Faculty: Faculty of Health Sciences; e). Student ID Number (NIM): 2110262089; f). Graduation Date: August 7th, 2025; g). Graduation Predicate: With High Distinction; h). GPA: 3.55 i). Length of Study: 4 Years; j). Address: Lubuk Gadang Village, Lubuk Pinang Subdistrict, Mukomuko Regency, Bengkulu

**IDENTIFIKASI BAKTERI *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Haemophilus influenza*, *Pseudomonas aeruginosa* DENGAN METODE MULTIPLEX RT-PCR PADA SAMPEL SALIVA PASIEN TB PARU**

By : Shintia oktavia

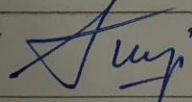
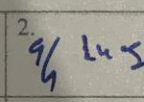
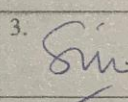
Supervisor: Dr. rer. nat. Ikhwan Resmala Sudji, S.Si, M.Si, M. Diki Juliandi, M.Biotek

**ABSTRACT**

Pulmonary tuberculosis (TB) is a contagious infectious disease that remains a significant public health burden, particularly in developing countries such as Indonesia. In addition to primary infection by *Mycobacterium tuberculosis*, TB patients are also at risk of secondary infections caused by opportunistic bacteria such as *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Haemophilus influenzae*, and *Pseudomonas aeruginosa*. These secondary infections may exacerbate clinical symptoms and prolong the treatment process. This study aimed to detect the presence of the four bacteria in saliva samples from pulmonary TB patients using the Multiplex RT-PCR method. This technique allows for the simultaneous detection of multiple genetic targets in a single PCR reaction, with high sensitivity and specificity. Saliva was chosen as a sample due to its non-invasive collection method, ease of access, and its ability to represent the flora of the upper respiratory tract. The study was conducted in May 2025 at the Center for Diagnostic and Infectious Disease Research Laboratory, Faculty of Medicine, Andalas University, using four saliva samples from confirmed TB patients. The analysis included DNA isolation, purity measurement, and bacterial detection using the Crown Lab® Pneumoplex 3.0 kit. Results showed that *H. influenzae* was detected in all samples, while *E. coli* appeared in only one sample with a high Ct value. *E. cloacae* and *P. aeruginosa* were not detected. In conclusion, Multiplex RT-PCR is effective for detecting secondary bacterial infections, and saliva is a valid sample for molecular examination.

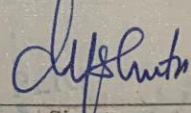
**Keyword:** Pulmonary tuberculosis, secondary infection, saliva, Multiplex RT-PCR.

Defended in front of the examiner and declared passed on August 7th, 2025

|                 |                                                                                        |                                                                                         |                                                                                          |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| Signature       | 1.  | 2.  | 3.  |
| Shintia Oktavia | Dr. rer. nat. Ikhwan Resmala Sudji, S.Si, M.Si                                         | M. Diki Juliandi, M.Biotek                                                              | Prof. Dr. Suryani, M.Si                                                                  |

Know

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

  
Signature







## **BAB I PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 67 Tahun 2016 menjelaskan bahwa tuberkulosis (TB) adalah penyakit menular yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Penyakit ini bisa menyerang paru-paru dan juga bisa menyebar ke organ lain dalam tubuh (Kemenkes, 2016). Menurut penjelasan dari Price (2006), TB adalah penyakit yang dikendalikan oleh sistem kekebalan tubuh kita, yang melibatkan sel-sel seperti makrofag dan limfosit (sel T). Sel-sel ini berfungsi untuk membantu melawan infeksi dan menjaga tubuh kita tetap sehat saat terinfeksi oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*.

Peraturan Presiden Nomor 67 Tahun 2021 dibuat sebagai panduan bagi semua pihak dalam menangani TBC di Indonesia. Aturannya menekankan pencegahan, pengobatan, serta pemulihan pasien supaya masyarakat lebih terlindungi dan dampak buruk dari penyakit ini bisa dikurangi. Ada juga artikel yang membahas peran Jaminan Kesehatan Nasional (JKN) dalam membantu mengatasi TBC di Indonesia. Artikel itu menjelaskan bahwa Indonesia bertekad untuk menghilangkan TBC pada tahun 2030, dan upaya ini didukung dengan adanya Peraturan Presiden Nomor 67 Tahun 2021 tentang Penanggulangan TBC.

Tuberkulosis (TB) paru adalah penyakit menular yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dan masih menjadi masalah kesehatan

global. Menurut WHO, Indonesia termasuk dalam 10 negara dengan kasus TB tertinggi di dunia. Salah satu tantangan dalam pengobatan TB paru adalah munculnya infeksi sekunder dari bakteri lain, seperti *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Haemophilus influenzae*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Infeksi tambahan ini bisa memperburuk kondisi pasien, memperpanjang waktu pengobatan, dan bahkan meningkatkan risiko kematian (WHO, 2023).

Bakteri seperti *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* sering ditemukan pada pasien dengan daya tahan tubuh lemah, termasuk penderita TB paru. Kedua bakteri ini bisa menyebabkan komplikasi serius seperti pneumonia dan sepsis (Wang *et al.*, 2021). Selain itu, *Haemophilus influenzae* dan *Enterobacter cloacae* juga dapat memperparah kerusakan paru-paru, terutama pada pasien dengan sistem imun rendah (Patel *et al.*, 2020). Oleh karena itu, penting untuk mendeteksi keberadaan bakteri ini sejak dini agar penanganan medis bisa lebih tepat.

Salah satu metode yang bisa digunakan adalah Multiplex Polymerase Chain Reaction (multiplex PCR), yaitu teknik yang memungkinkan deteksi beberapa jenis bakteri dalam satu kali tes dengan tingkat akurasi tinggi. Metode ini lebih cepat dan efisien dibandingkan teknik konvensional (Chakravorty *et al.*, 2017). Selain itu, penggunaan saliva sebagai sampel menjadi pilihan yang praktis karena lebih mudah diambil dibandingkan dengan dahak (sputum), tidak menyakitkan, dan tetap memberikan hasil yang akurat (Almeida *et al.*, 2019).

Saliva mengandung biomarker biologis seperti DNA bakteri, enzim, dan sitokin yang relevan dalam mendiagnosis infeksi, termasuk TB. DNA *Mycobacterium tuberculosis* dapat dideteksi dalam saliva, yang memungkinkan diagnosis yang lebih cepat (Kumar *et al.*, 2016 ). Multiplex PCR memungkinkan deteksi beberapa patogen dalam satu sampel, termasuk *Mycobacterium tuberculosis* dan bakteri lain seperti *Pseudomonas aeruginosa* atau *Haemophilus influenzae*, yang sering menginfeksi pasien TB. Teknik ini memungkinkan diagnosis infeksi sekunder yang sering terjadi pada pasien dengan TB paru ( Siddiqui *et al.*, 2017 )

Dengan metode multiplex PCR berbasis saliva, diagnosis infeksi sekunder pada pasien TB paru bisa dilakukan dengan lebih cepat dan nyaman. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Haemophilus influenzae*, dan *Pseudomonas aeruginosa* pada pasien TB paru menggunakan metode ini. Harapannya, hasil penelitian ini bisa membantu pengembangan metode diagnostik yang lebih cepat, akurat, dan efektif dalam penanganan TB paru.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Apakah ada bakteri seperti *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Haemophilus influenzae*, dan *Pseudomonas aeruginosa* ditemukan dalam sampel pasien saliva TB paru.

### 1.3 Tujuan Penelitian

#### 1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui apakah ada bakteri seperti *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Haemophilus influenzae*, dan *Pseudomonas aeruginosa* dalam sampel saliva pasien tuberculosis.

#### 1.3.2 Tujuan Khusus

Dalam penelitian yang dilakukan mempunyai beberapa tujuan khusus yakni:

1. Mengidentifikasi Bakteri *Escherichia coli* pada Pasien TB Paru sampel saliva dengan metode Multiplex PCR
2. Mengidentifikasi Bakteri *Enterobacter cloacae* pada Pasien TB Paru sampel saliva dengan metode Multiplex PCR
3. Mengidentifikasi Bakteri *Haemophilus influenzae* pada Pasien TB Paru sampel saliva dengan metode Multiplex PCR
4. Mengidentifikasi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada Pasien TB Paru sampel saliva dengan metode Multiplex PCR

### 1.4 Manfaat Penelitian

#### 1.4.1 Bagi Peneliti

Penelitian ini memberikan manfaat secara langsung bagi peneliti. Adapun manfaat tersebut dijabarkan sebagai berikut:

1. Menambah pengetahuan tentang bagaimana metode Multiplex Polymerase Chain Reaction (multiplex PCR) bisa digunakan untuk mendeteksi infeksi bakteri pada pasien TB paru.

2. Memberikan data tentang seberapa sering bakteri *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Haemophilus influenzae*, dan *Pseudomonas aeruginosa* ditemukan pada pasien TB paru, yang bisa dijadikan referensi untuk penelitian selanjutnya.

#### **1.4.2 Bagi Institusi Akademik**

Penelitian ini memberikan manfaat secara langsung bagi peneliti.

Adapun manfaat tersebut dijabarkan sebagai berikut:

1. Membantu mahasiswa, dosen, dan peneliti memahami teknik molekuler seperti multiplex PCR dan bagaimana cara menggunakannya dalam penelitian kesehatan.
2. Menyediakan data yang bisa digunakan sebagai dasar untuk penelitian lebih lanjut di bidang mikrobiologi, kesehatan masyarakat, dan teknologi diagnostik.

#### **1.4.3 Bagi Tenaga Teknis Laboratorium**

Memberikan informasi Bakteri (*Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Haemophilus influenzae*, dan *Pseudomonas aeruginosa* ) Dengan Metode Multiplex PCR pada sampel saliva pasien TB paru.

## **BAB V**

### **PEMBAHASAN**

Tuberkulosis (TB) merupakan salah satu penyakit infeksi paling mematikan di dunia. Menurut World Health Organization (WHO), Indonesia berada di peringkat kedua dengan jumlah kasus TB terbanyak setelah India. Pada tahun 2023, diperkirakan terdapat 1,06 juta kasus TB dan 134.000 kematian akibat TB di Indonesia (WHO tb report, 2024). Rendahnya daya tahan tubuh pada pasien TB membuka peluang infeksi sekunder oleh bakteri oportunistik, terutama pada saluran pernapasan (Tudor *et al.*, 2022).

Salah satu metode yang digunakan dalam upaya mendiagnosis tuberkulosis adalah Nucleic Acid Amplification Test (NAAT). Metode ini dikenal karena kecepatan dan akurasi dalam mendeteksi keberadaan DNA *Mycobacterium tuberculosis*. Pemerintah Indonesia telah mengambil langkah serius dalam penanggulangan penyakit ini melalui Peraturan Presiden No. 67 Tahun 2021, yang menekankan pentingnya peningkatan akses layanan TBC yang berkualitas, pemanfaatan hasil penelitian, serta optimalisasi proses skrining, diagnosis, dan tata laksana kasus tuberkulosis. Seiring dengan implementasi kebijakan ini, penggunaan NAAT, khususnya Tes Cepat Molekuler (TCM) berbasis GeneXpert, semakin meluas di berbagai fasilitas pelayanan kesehatan (Siahaan *et al.*, 2022).

Pasien TB paru diketahui tidak hanya mengalami infeksi oleh *M. tuberculosis*, tetapi juga rentan terhadap infeksi sekunder oleh bakteri lain yang menyerang saluran pernapasan. Hal ini terjadi akibat penurunan sistem kekebalan tubuh. Sayangnya, keberadaan bakteri penyebab pneumonia seperti *Escherichia*

*coli*, *Enterobacter cloacae*, *Haemophilus influenzae*, dan *Pseudomonas aeruginosa* jarang terdeteksi dalam pemeriksaan rutin. Padahal, infeksi koinfeksi ini dapat memperparah kondisi klinis pasien serta memengaruhi efektivitas pengobatan tuberkulosis.

Guna meningkatkan efektivitas diagnosis, perlu dilakukan deteksi dini terhadap bakteri non-tuberkulosis pada sampel saliva pasien TB. Metode yang tersedia meliputi kultur dan teknik NAAT. Namun, teknik kultur memiliki beberapa keterbatasan, seperti memerlukan waktu lama, kurang sensitif terhadap jumlah bakteri yang rendah, dan tidak dapat memberikan hasil kuantitatif yang akurat. Sebaliknya, teknik NAAT mampu mendeteksi keberadaan materi genetik bakteri secara cepat dan lebih sensitif.

Saat ini, tersedia berbagai kit diagnostik berbasis NAAT yang dapat mengidentifikasi keberadaan bakteri non-TB pada sampel saliva, termasuk deteksi terhadap *E. coli*, *E. cloacae*, *H. influenzae*, dan *P. aeruginosa*. Namun, sejauh ini, data mengenai prevalensi bakteri-bakteri tersebut pada pasien TB di wilayah Sumatra Barat masih sangat terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan bakteri non-TB pada saliva pasien TB paru dengan menggunakan Kit Crown\_Lab® Pneumoplex 3.0 berbasis Multiplex RT-PCR.

Penelitian dilakukan terhadap empat sampel saliva pasien TB paru. Proses dimulai dengan isolasi DNA, yang kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan menggunakan kit Crown\_Lab® Pneumoplex 3.0. Hasil analisis menunjukkan adanya DNA *Mycobacterium tuberculosis*, disertai deteksi DNA dari beberapa bakteri non-TB. Dengan sensitivitas tinggi dari metode Multiplex RT-PCR, kit ini

berhasil mengidentifikasi keberadaan *E. coli*, *E. cloacae*, *H. influenzae*, dan *P. aeruginosa* secara spesifik. Berdasarkan temuan ini, keempat sampel terbukti mengandung bakteri selain *M. tuberculosis*, yang mengindikasikan adanya potensi infeksi koinfeksi.

### **5.1 Keberadaan *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Haemophilus influenzae*, dan *Pseudomonas aeruginosa* pada Sampel Saliva Pasien Positif Tuberkulosis**

Tuberkulosis (TB) paru adalah penyakit menular kronis yang menyerang jaringan paru dan sangat erat kaitannya dengan menurunnya sistem imun tubuh. Ketika sistem imun terganggu, tubuh menjadi rentan terhadap infeksi sekunder, terutama oleh bakteri oportunistik. Beberapa jenis bakteri Gram negatif seperti *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Haemophilus influenzae*, dan *Pseudomonas aeruginosa* diketahui dapat menyebabkan infeksi saluran napas pada individu dengan imunitas rendah.

Dalam penelitian ini, dilakukan identifikasi keempat bakteri tersebut pada sampel saliva pasien TB paru dengan menggunakan Multiplex RT-PCR Kit Pneumoplex 3.0. Hasil menunjukkan bahwa *Haemophilus influenzae* adalah bakteri yang paling konsisten terdeteksi, muncul pada keempat sampel pasien (Ny. N, Ny. Y, Ny. RN, dan Ny. YA). Nilai Ct yang diperoleh berkisar antara 27–39, yang menandakan keberadaan DNA bakteri dalam jumlah bervariasi. Deteksi ini mengindikasikan bahwa *H. influenzae* kemungkinan merupakan flora sekunder yang berkembang pada kondisi paru yang telah rusak oleh infeksi TB.

Sementara itu, *Escherichia coli* hanya terdeteksi pada satu sampel, yakni Ny. N, dengan nilai Ct tinggi (39.63), mendekati ambang batas interpretasi. Nilai Ct yang tinggi menunjukkan konsentrasi DNA yang sangat rendah atau kemungkinan adanya kontaminasi. *Enterobacter cloacae* dan *Pseudomonas aeruginosa* sama sekali tidak terdeteksi pada seluruh sampel, yang dapat mengindikasikan bahwa infeksi oleh kedua bakteri tersebut tidak umum terjadi pada pasien TB paru dalam studi ini, atau bahwa waktu dan kondisi pengambilan sampel tidak sesuai untuk mendeteksinya.

Pentingnya mengidentifikasi keberadaan bakteri sekunder pada pasien TB paru terletak pada potensi komplikasi klinis yang dapat ditimbulkan. Koinfeksi bakteri dapat memperparah kondisi paru, memperlama masa pengobatan, serta memengaruhi pilihan terapi antibiotik. Dengan deteksi dini melalui teknik molekuler, dokter dapat merencanakan penanganan yang lebih tepat dan mencegah kemungkinan resistensi antibiotik.

## 5.2 Korelasi Klinis RT-PCR

Pemeriksaan molekuler tidak hanya memberikan data laboratorium, tetapi juga berkontribusi dalam memperkuat diagnosis klinis. Dalam studi ini, pasien yang teridentifikasi positif *Haemophilus influenzae* berdasarkan pemeriksaan RT-PCR umumnya menunjukkan gejala klinis khas infeksi saluran pernapasan seperti batuk berdahak yang persisten, peningkatan sesak napas, dan suara napas mengi. Gejala-gejala tersebut menjadi penanda bahwa infeksi sekunder *H. influenzae* dapat memperburuk kondisi TB paru yang sudah ada.

Sebaliknya, pada pasien yang hasil RT-PCR-nya negatif terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, dan *Escherichia coli*, juga tidak ditemukan gejala khas dari infeksi bakteri tersebut, seperti demam tinggi persisten, sputum purulen berat, atau deteriorasi klinis yang signifikan. Hal ini menguatkan bahwa pemeriksaan Multiplex RT-PCR mampu memberikan hasil yang selaras dengan kondisi klinis pasien, serta membantu menghindari overdiagnosis dan overmedikasi. Korelasi antara data klinis dan hasil laboratorium sangat penting dalam praktik kedokteran berbasis bukti (evidence-based medicine).

Multiplex RT-PCR dapat memperjelas sumber gejala yang dialami pasien dan membantu membedakan antara gejala akibat TB primer dengan gejala yang timbul karena infeksi sekunder. Gejala yang dialami pasien tuberkulosis (TB) primer biasanya berasal dari respons imun tubuh terhadap infeksi awal oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Gejala umum meliputi batuk berkepanjangan, demam ringan, penurunan berat badan, dan keringat malam. Sebaliknya, gejala akibat infeksi sekunder sering kali lebih kompleks karena melibatkan komplikasi atau infeksi tambahan yang terjadi setelah TB primer. Infeksi sekunder dapat disebabkan oleh bakteri lain, virus, atau jamur yang memanfaatkan sistem imun yang sudah melemah akibat TB primer. Perbedaan Gejala Akibat TB Primer dan Infeksi Sekunder

#### 1. TB Primer:

- a. Batuk berkepanjangan tanpa dahak atau dengan dahak minimal.
- b. Demam ringan yang berlangsung lama.

- c. Penurunan berat badan secara bertahap.
  - d. Keringat malam yang tidak terlalu parah.
2. Infeksi Sekunder:
- a. Batuk dengan dahak yang lebih kental atau bercampur darah.
  - b. Demam tinggi yang disertai menggigil.
  - c. Penurunan berat badan yang lebih drastis.
  - d. Keringat malam yang lebih intens dan sering.
  - e. Gejala tambahan seperti nyeri dada, sesak napas, atau pembengkakan kelenjar getah bening.

Menurut penelitian oleh Suryanto *et al.* (2023), perbedaan gejala ini penting untuk diagnosis dan penanganan yang tepat, karena infeksi sekunder sering kali membutuhkan terapi tambahan selain pengobatan TB primer.

### **5.3 Keunggulan Metode Multiplex RT-PCR dalam Deteksi Bakteri**

Multiplex RT-PCR merupakan teknik amplifikasi asam nukleat yang memungkinkan deteksi simultan beberapa target genetik dalam satu kali reaksi. Metode ini sangat berguna dalam situasi klinis di mana waktu, akurasi, dan jumlah sampel yang terbatas menjadi tantangan utama. Keunggulan utama Multiplex RT-PCR adalah kecepatan hasil. Jika metode kultur konvensional membutuhkan waktu 48–72 jam atau lebih untuk menumbuhkan koloni bakteri, RT-PCR dapat memberikan hasil dalam waktu kurang dari 2 jam. Selain itu, sensitivitas metode ini sangat tinggi karena dapat mendeteksi jumlah DNA bakteri yang sangat rendah, bahkan pada sampel non-invasif seperti saliva.

Dalam penelitian ini, Multiplex RT-PCR mampu mendeteksi *H. influenzae* dan *E. coli* dari saliva pasien dengan nilai Ct yang bervariasi. Metode ini juga menunjukkan konsistensi hasil dengan kontrol positif dan internal, yang menegaskan validitasnya. Tidak hanya itu, penggunaan reagen multiplex meminimalkan biaya dan volume reaksi dibandingkan dengan RT-PCR konvensional satu target. Selain akurasi dan efisiensi, metode ini juga sangat berguna dalam konteks klinis untuk pasien imunokompromais, termasuk pasien TB. Pemeriksaan molekuler semacam ini mampu mempercepat diagnosis, membantu keputusan pemberian antibiotik, dan mengurangi risiko penyebaran infeksi sekunder yang tidak terdiagnosis. Dengan mempertimbangkan semua keunggulan tersebut, Multiplex RT-PCR terbukti sebagai alat diagnostik molekuler yang sangat efektif untuk mendeteksi koinfeksi bakteri, khususnya pada populasi pasien dengan penyakit infeksi kronis seperti tuberkulosis paru.

#### **5.4 Kelebihan Saliva sebagai Spesimen Pemeriksaan TB dan Bakteri Paru-paru Lainnya**

Penggunaan saliva sebagai spesimen diagnostik menawarkan beberapa keuntungan signifikan dibandingkan dengan spesimen tradisional seperti sputum, terutama dalam konteks skrining massal dan peningkatan aksesibilitas pemeriksaan Non-invasif dan Mudah Dikumpulkan. Salah satu keunggulan utama saliva adalah metode pengumpulannya yang non-invasif. Berbeda dengan sputum yang seringkali memerlukan prosedur batuk yang sulit dan berpotensi menimbulkan aerosol, saliva dapat dikumpulkan dengan mudah

oleh pasien sendiri atau dengan bantuan minimal dari tenaga kesehatan. Hal ini sangat mengurangi ketidaknyamanan pasien, terutama pada anak-anak, lansia, atau pasien yang tidak dapat menghasilkan sputum (sputum-negatif atau paucibacillary TB). Kemudahan pengumpulan ini juga berpotensi meningkatkan kepatuhan pasien dalam memberikan spesimen.

Mengurangi Risiko Penularan Aerosol: Pengumpulan sputum melalui batuk dapat menghasilkan aerosol yang mengandung *Mycobacterium tuberculosis* atau bakteri patogen lainnya, meningkatkan risiko penularan infeksi di fasilitas kesehatan. Saliva, yang dikumpulkan melalui meludah atau penampungan air liur, cenderung menghasilkan lebih sedikit aerosol, sehingga mengurangi potensi transmisi nosokomial. Ini menjadi faktor penting dalam pengaturan kontrol infeksi, terutama di klinik atau puskesmas dengan ventilasi terbatas. Potensi untuk Skrining Massal dan Deteksi Dini Sifat non-invasif dan kemudahan pengumpulan saliva menjadikannya kandidat ideal untuk program skrining massal, terutama di komunitas berisiko tinggi atau daerah endemik TB. Dengan metode pengumpulan yang sederhana, lebih banyak individu dapat dijangkau untuk skrining awal, memungkinkan deteksi dini infeksi dan intervensi yang cepat. Hal ini sangat krusial dalam upaya eliminasi TB, di mana deteksi kasus aktif yang cepat dan akurat adalah kunci untuk menghentikan rantai penularan.

Mengurangi Ketergantungan pada Tenaga Kesehatan Terlatih: Pengumpulan sputum seringkali membutuhkan pengawasan atau panduan dari tenaga kesehatan yang terlatih untuk memastikan kualitas spesimen.

Pengumpulan saliva, di sisi lain, dapat dilakukan dengan instruksi sederhana, mengurangi beban kerja tenaga kesehatan dan memungkinkan fokus pada aspek lain dari manajemen pasien. Ini sangat relevan di daerah terpencil atau fasilitas kesehatan dengan keterbatasan staf. Stabilitas Sampel dan Transportasi Meskipun perlu penelitian lebih lanjut mengenai kondisi penyimpanan optimal, beberapa studi menunjukkan bahwa DNA bakteri dalam saliva cukup stabil untuk transportasi, terutama jika dikeringkan atau disimpan dalam media yang sesuai. Stabilitas ini dapat memfasilitasi pengiriman sampel dari daerah terpencil ke laboratorium rujukan, memperluas jangkauan layanan diagnostik.

Aplikasi untuk Berbagai Teknik Diagnostik Molekuler Saliva mengandung DNA dan RNA bakteri, menjadikannya spesimen yang cocok untuk berbagai teknik diagnostik molekuler seperti Polymerase Chain Reaction (PCR), GeneXpert, Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP), dan sekuensing. Teknik-teknik ini memiliki sensitivitas dan spesifisitas tinggi dalam mendeteksi materi genetik patogen, memungkinkan identifikasi cepat dan akurat. Potensi untuk mendeteksi resistensi obat juga dapat dieksplorasi dari spesimen saliva.

### **5.5 Kekurangan Saliva sebagai Spesimen Pemeriksaan TB dan Bakteri Paru-paru Lainnya**

Penggunaan saliva sebagai spesimen diagnostik juga memiliki beberapa keterbatasan yang perlu dipertimbangkan. Sensitivitas yang bervariasi salah satu tantangan utama adalah variabilitas sensitivitas. Beberapa penelitian

menunjukkan bahwa sensitivitas deteksi *M. tuberculosis* atau bakteri paru-paru lainnya dalam saliva mungkin lebih rendah dibandingkan dengan sputum, terutama pada pasien dengan beban bakteri yang rendah (paucibacillary TB) atau pada tahap awal infeksi. Hal ini dapat menyebabkan hasil negatif palsu, menunda diagnosis dan pengobatan. Variabilitas ini dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti metode pengumpulan saliva, waktu pengumpulan, dan konsentrasi bakteri dalam saliva.

Kontaminasi oleh Flora Normal Mulut Saliva secara alami mengandung beragam flora mikroba dari rongga mulut dan saluran pernapasan atas. Kontaminasi oleh bakteri komensal ini dapat mempersulit isolasi dan identifikasi bakteri patogen spesifik, terutama jika pemeriksaan melibatkan kultur bakteri tradisional. Meskipun teknik molekuler dapat membedakan materi genetik target, keberadaan DNA/RNA non-target dalam jumlah tinggi dapat menghambat efisiensi ekstraksi dan amplifikasi.

Inkonsistensi Kualitas Sampel Kualitas sampel saliva dapat sangat bervariasi antar individu dan bahkan pada individu yang sama tergantung pada kondisi hidrasi, kebersihan mulut, dan faktor-faktor lainnya. Sampel yang terlalu encer atau terkontaminasi oleh makanan/minuman dapat mengurangi konsentrasi bakteri atau materi genetik, mempengaruhi akurasi hasil. Standardisasi metode pengumpulan dan pretreatment sampel menjadi krusial untuk meminimalkan variabilitas ini. Tidak Menggambarkan Kondisi Paru-paru Secara Langsung Meskipun saliva dapat mengandung bakteri dari saluran pernapasan, ia tidak secara langsung merefleksikan kondisi infeksi di paru-

paru seperti halnya sputum yang berasal langsung dari saluran napas bawah. Bakteri dalam saliva mungkin berasal dari orofaring yang terkontaminasi atau dari batuk yang mengeluarkan partikel dari paru-paru. Hal ini dapat menimbulkan pertanyaan tentang representasi infeksi paru-paru yang sebenarnya, terutama pada kasus di mana infeksi terlokalisasi di bagian dalam paru-paru.

Potensi untuk Menghasilkan Hasil Positif Palsu Kontaminasi silang selama pengumpulan atau pemrosesan, serta deteksi DNA/RNA bakteri dari infeksi masa lalu (non-viable bacteria), dapat menyebabkan hasil positif palsu. Meskipun teknik molekuler sangat sensitif, mereka tidak selalu dapat membedakan antara bakteri hidup dan mati, yang dapat menjadi masalah dalam pemantauan respons pengobatan.

Keterbatasan Aplikasi untuk Uji Kepekaan Obat (DST) Untuk uji kepekaan obat (Drug Susceptibility Testing/DST) yang berbasis kultur, saliva mungkin tidak selalu ideal karena kesulitan isolasi bakteri hidup dari matriks yang kompleks dan terkontaminasi. Meskipun beberapa metode DST molekuler dapat diterapkan, keberhasilan isolasi bakteri hidup untuk kultur masih menjadi tantangan.

## **5.6 Implikasi dan Rekomendasi**

Meskipun ada keterbatasan, potensi saliva sebagai spesimen diagnostik untuk TB dan bakteri paru-paru lainnya sangat menjanjikan, terutama dalam konteks peningkatan aksesibilitas dan kemudahan pengumpulan. Untuk mengatasi kekurangannya, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk:

1. Mengembangkan metode pengumpulan dan pretreatment saliva yang terstandarisasi untuk meningkatkan konsentrasi patogen dan mengurangi kontaminasi.
2. Mengeksplorasi teknik ekstraksi dan purifikasi DNA/RNA yang lebih efisien dari saliva.
3. Melakukan studi validasi skala besar untuk membandingkan sensitivitas dan spesifisitas saliva dengan spesimen tradisional di berbagai populasi pasien.
4. Mengembangkan metode diagnostik yang lebih spesifik untuk membedakan antara infeksi aktif dan paparan masa lalu.

