SKRIPSI

DETEKSI GEN *esxA* PADA ISOLAT *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* (MTB) PADA PASIEN *TUBERCULOSIS*

DISUSUN OLEH:

MAULIDYAH SHOFYA HASAN

B1D121182

PROGRAM STUDI DIV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIK

FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN

UNIVERSITAS MEGAREZKY

MAKASSAR

2025

HALAMAN JUDUL

SKRIPSI

DETEKSI GEN *esxA* PADA ISOLAT *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* (MTB) PADA PASIEN *TUBERCULOSIS*

DETECTION OF EXSA GENE FROM MYCOBACTERIUM TB (MTB) ISOLATES IN TUBERCULOSIS PATIENTS USING POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) METHOD

MAULIDYAH SHOFYA HASAN
B1D121182

Dibimbing Oleh

Pembimbing I

Dr. Nirmawati Angria, S.Si.,M.,Kes

Pembimbing II

A. Meryam Susanti, S. Tr. A.K.,M.Imun

Penguji

Nurfitri Arfani, S.Si.,M.Si

PROGRAM STUDI DIV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS

FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN

UNIVERSITAS MEGAREZKY

MAKASSAR

2025

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

DETEKSI GEN *eccA* PADA ISOLAT *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* (MTB) PADA PASIEN *TUBERCULOSIS*

Disusun dan diajukan oleh

MAULIDYAH SHOFYA HASAN

Nomor Induk Mahasiswa B1D121182

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi

Pada tanggal 25 Juli 2025

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Tim Penguji	Tanda Tangan
1. Dr. Nirmawati Angria, S.Si.,M.Kes	
2. A. Meryam Susanti, S. Tr. A.K.,M.Imun	
3. Nurfitri Arfani, S.Si.,M.Si	

Mengetahui

Dekan	Ketua Program Studi
Fakultas Teknologi Kesehatan	DIV Teknologi Laboratorium Medis
Prof. Dr. Drs. Apt. Hj Asnah Marzuki, M.Si.	**Dr. Nirmawati Angria, S.Si., M.Kes.**
NUPTK.1350727628230013	**NUPTK. 6950765666230332**

iv

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT (LPPM)
UNIVERSITAS MEGAREZKY
SK. Menristekdikti RI. No.1194/KPT/I/2018 Terakreditasi BAN PT
Kampus II : Jalan Antang Raya No. 43 Telp. 0411 - 492 401 - 496401 Fax. 496614 Website : http://universitasmegarezky.ac.id E-mail: info@universitasmegarezky.ac.id

KETERANGAN LOLOS UJI TURNITIN
No. 1711/T/07.091056/VIII /2025

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Syamsyuriyana Sabar, S.Kep., Ns., M.Kep

NIDN : 0915118602

Jabatan : Ketua LPPM

Menyatakan bahwa :

Nama : Maulidyah Shofya Hasan

NIM : B1D121182

Prodi : DIV Teknologi Laboratorium Medis

Judul Skripsi/KTI : Deteksi Gen EsxA pada suspek penderita Tuberkulosis metode Polymerase Chain Reaction (PCR)

Telah melalui uji *similarity* dengan software *Turnitin* dan dinyatakan lolos dengan **persentase 22 %** sesuai bukti terlampir.

Demikian Surat Keterangan ini di buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 12 Agustus 2025
Ketua,

Ns. Syamsyuriyana Sabar, M.Kep
NIDN: 09 151186 02

MOTTO

"Dengan izin Allah dan kerja keras, tak ada perjuangan yang sia-sia, bahkan saat semua harus kuhadapi sendiri."

(Maulidyah Shofya Hasan)

"Langkahku berat, tapi keyakinanku kuat."

“Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan.”

(QS. Al-Insyirah: 6)

“Ketahuilah, sesungguhnya pertolongan Allah itu datang bersama kesabaran, jalan keluar bersama kesempitan, dan kemudahan bersama kesulitan.”

(HR. Tirmidzi no. 2516)

“Sebaik-baik manusia adalah yang paling bermanfaat bagi orang lain.”

(HR. Ahmad, Thabrani, dan Daruquthni)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan rasa syukur yang mendalam, karya sederhana ini kupersembahkan kepada , Ayahanda Mohammad Hasan dan Ibunda Dewi Handayani. Terima kasih atas segala pengorbanan yang telah merawat dan membesarkan serta dukungan yang tiada hentinya menjadi kekuatan setiap langkah ku dalam menempuh pendidikan yang setinggi tingginya. Terima kasih cinta dan kasih sayang nya serta doa dan semangat yang selalu kalian berikan. Dan teruntuk diri ku sendiri terima kasih, perempuan yang telah bertahan, belajar, dan terus melangkah meski tak selalu mudah. Terima kasih telah kuat ketika ingin menyerah yang selalu tetap berdiri saat merasa sendiri dan memilih untuk terus percaya meskipun terlihat samar.

Skripsi ini adalah bukti bahwa kamu mampu. Bukan karena segalanya mudah, tetapi karena kamu tidak berhenti berusaha.

CURRICULUM VITAE



MAULIDYAH SHOFYA HASAN

B1D121182

Program Studi : DIV Teknologi Laboratorium Kesehatan

Alamat : Jln Rappocini Raya Lorong 9A No 12

Orang Tua

Ayah : Mohammad Hasan

Ibu : Dewi Handayani

Alamat : Makassar, Sulawesi Selatan

Riwayat Pendidikan

SD : SD Inpres Cilallang

SMP : SMP PGRI Disamakan Makassar

SMK : SMK Pratidina Makassar

Prinsip Hidup : Hanya orang-orang bodoh yang gampang puas Maka Kerja keras hari ini adalah kesuksesan di masa depan."

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah Subhanahu Wa Ta'ala karena atas rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini yang berjudul **''Deteksi Gen *esxA* Pada Isolat *Mycobacterium Tuberculosis* (MTB) Pada Pasien *Tuberculosis*''** Penyusunan karya tulis ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Teknologi Kesehatan Universitas Megarezky. Penulis menyadari bahwa tanpa bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak, karya tulis ini tidak akan dapat terselesaikan dengan baik. Dengan penuh rasa hormat dan cinta, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada kedua orang tua tercinta Ibu **Dewi Handayani** dan Bapak **Mohammad Hasan** yang senantiasa mendoakan, mendampingi, serta memberikan semangat, kasih sayang, dan dukungan moril maupun materil tanpa henti. Tanpa keikhlasan dan doa dari Ayah dan Ibu, penyusunan Skripsi ini tidak akan pernah terwujud.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya juga penulis sampaikan kepada:

1. Bapak **Dr. H. Alimuddin, SH., MH., M.Kn sebagai Pembina Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar,** atas arahan dan pembinaan yang senantiasa menjadi fondasi dalam pengembangan institusi dan mahasiswa.
2. Ibu **Alm. Hj. Suryani, SH., MH sebagai Pendiri Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar,** atas dedikasi dan kontribusi luar biasa dalam mendirikan lembaga pendidikan yang menjadi wadah pengembangan ilmu dan karakter.

3. Bapak **Moch. Noer Alim Qolby, S.H., LLM Sebagai Ketua Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar,** atas dukungan dan kebijakan strategis yang memfasilitasi proses pendidikan dan penelitian secara berkelanjutan.
4. Bapak **Prof. Dr. Anwar Ramli, SE., M.Si sebagai Rektor Universitas Megarezky**, atas motivasi dan arahannya dalam membangun budaya akademik yang unggul dan berdaya saing.
5. Ibu **Prof. Dra Apt. Hj Asnah Marzuki, M.Si selaku dekan Fakultas Teknologi Kesehatan Universitas Megarezky** atas kesempatan dan dukungan yang diberikan selama proses studi
6. ibu **Dr. Ibu Nirmawati Angria, S.Si., M.Kes selaku ketua program studi DIV Teknologi Laboratorium Medis dan sebagai pembimbing I** yang senantiasa memberikan bimbingan akademik yang berkelanjutan dan inspiratif
7. Ibu **A. Meryam Susanti, S. Tr. A.K., M.Imun sebagai pembimbing II** yang telah memberikan banyak ilmu serta bimbingan, serta motivasi dan sabar dalam membimbing penulis selama penyusunan Skripsi.
8. Ibu **Nurfitri Arfani, S.Si., M.Si selaku penguji utama** yang bersedia meluangkan waktu untuk menguji.
9. Ibu **Handayani Halik, S.Si.,M.Kes selaku dosen pembimbing akademik** yang telah banyak memberikan motivasi dan dukungan serta bimbingan sangat membangun bagi penulis selama ini menjalankan pendidikan di Universitas Megarezki Makassar

10. Segenap **dosen Program studi DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky** yang sudah memberikan Ilmu Pengetahuan dan didikan kepada penulis.
11. Seluruh **staf Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky** yang sudah membantu penulis untuk pengurusan selama kuliah.
12. Kepada semua **rekan seangkatan DIV 2021D** yang telah membantu memberikan motivasi, semangat dan dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan tugas skripsi.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan karya ilmiah ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan karya ini di masa mendatang. Akhir kata, semoga karya ilmiah ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca, serta menjadi kontribusi yang berarti dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

Makassar, 7 Juli 2025

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL ..... **ii**
HALAMAN PERSETUJUAN ..... **iii**
HALAMAN PENGESAHAN ..... **iv**
KATA PENGANTAR ..... **v**
DAFTAR ISI ..... **viii**
DAFTAR GAMBAR ..... **x**
DAFTAR SINGKATAN ..... **xi**
BAB I PENDAHULUAN **1**
A. Latar Belakang 1
B. Rumusan masalah 4
C. Tujuan penelitian 4
D. Manfaat penelitian 5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA **6**
A. Tinjauan Umum 6
1. Definisi *Tuberculosis* (TB) 7
2. Epidemiologi *Tuberkulosis* (TB) 8
3. Etiologi Dan Transmisi *Tuberkulosis* (TB) 8
4. Faktor Resiko *Tuberkulosis (* TB) 11
5. Pengobatan *Tuberkulosis* (TB) 11
B. Tinjauan umum 34
1. Definisi34
2. 36
3. Morfologi 34
4. Patogenesis 36
C. Tinjauan Umum Gen 40
1. Definisi dan peran gen 41
2. Mekanisme Patogenesis yang melibatkan ExsA 46
D. Tinjauan Umum PCR 46
1. Definisi 42
2. Komponen - komponen PCR 47

3. Tahapan PCR 47
4. Kelebihan dan kekurangan PCR 48
E. Kerangka Teori 50
F. Kerangka Konsep 51
G. Definisi Operasional 52
BAB III METODE PENELITIAN 53
A. Jenis Penelitian 53
B. Lokasi dan Waktu Penelitian 53
C. Populasi dan Sampel 53
D. Kriteria Sampel 54
E. Instrumen Penelitian 54
F. Prosedur kerja 28
G. Teknik Analisis Data 57
H. Etika penelitian 58
I. Alur Kerja 60
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 61
A. Hasil Penelitian 61
B. Pembahasan Penelitian 64
BAB V PENUTUP 70
A. Kesimpulan 70
B. Saran 70
DAFTAR PUSTAKA 71
LAMPIRAN 75

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi *Mycobacterium tuberculosis (MTB)* 11
Gambar 2.2 Patogenesis *Tuberkulosis (TB)* 13
Gambar 2.3 alat *Polymerase Chain Reaction (*PCR) 19
Gambar 2.4 Tahapan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) 19
Gambar 2.5 Kerangka Teori 22
Gambar 2.6 Kerangka Konsep 23
Gambar 3.1 Alur Penelitian 3

DAFTAR SINGKATAN

CrRNA	: *clustered regularly interspaced short palindromic repeats*
EDTA	: *Ethylenediaminetetraacetic Acid*
WHO	: *World Health Organization*
TCM	: Tes Cepat Molekuler
RI	: Republik Indonesia
KEMENKES	: Kementerian Kesehatan
RD	: *Regions of differences*
LJ	: *Lowenstein Jensen*
CFP	: *Culture Protein*
Sel T	: Sel Timus
DNA	: *Deoxyribonucleic Acid*
RNA	: *Ribonucleic Acid*
MTBC	: *Mycobacterium Tuberculosis Complex*
DnTP	: *Deoxynucleoside trisphosphate*
HUMRC	: *Hasanuddin University Research Center*
DM	: Diabetes Melitus
BTA	: Basil Tahan Asam
TCM	: Tes Cepat Molekuler
TBE	: *Tris Borat EDTA*
KCI	: *Kalium Klorida*
HCL	: *Asam Klorida*
NAOH	: *Natrium Hidroksida*
RPM	: Rotasi Per Menit
C	: *Celcius*
LB	: *Loading Buffer*

ABSTRAK

Maulidyah Shofya Hasan (B1D121182) ‘’**Deteksi Gen *esxA* Pada Isolat Mycobacterium Tuberculosis (MTB) Pada Pasien *Tuberculosis***’’ Dibimbing oleh Nirmawati Angria Dan A. Meryam Susanti.

Penyakit menular yang dikenal sebagai tuberkulosis (TB) disebabkan oleh bakteri Mycobacterium tuberculosis. Gen esxA ditemukan pada kromosom M. tuberculosis di Wilayah Perbedaan 1 (RD1). Mengkode protein ESAT-6, salah satu protein utama yang dikeluarkan bakteri melalui sistem sekresi ESX-1. yaitu salah satu faktor virulensi utama bakteri penyebab tuberkulosis. Protein ini disekresikan melalui sistem sekresi ESX-1 dan berperan penting dalam Membantu bakteri keluar dari fagosom di dalam sel inang, Menghindari penghancuran oleh sistem imun dan dapat Memicu respon imun yang khas pada TB. Tujuan dalam penelitian ini untuk mendeteksi Gen *esxA* Pada Suspek Penderita *Tuberculosis* Dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Metode penelitian yaitu kualitatif bersifat deskriptif yaitu dengan melakukan uji laboratorium dengan menggunakan sampel isolat *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) di HUMRC (*Hasanuddin University Medical Research Center*) yang memenuhi kriteria inklusif dan eksklusi. Hasil penelitian menunjukkan terdapat pita dan pada sampel 001 dengan target 339 bp sehingga dapat disimpulkan bahwa 15 sampel *MTB* hanya terdapat 1 sampel yang terdeteksi gen *esxA.*

Kata Kunci : Gen *esxA*, isolat, *Tuberculosis, Mycobacterium, Persentase*, PCR

ABSTRACT

Maulidyah Shofya Hasan (BID121182): Detection of the esxA Gene in Mycobacterium tuberculosis Isolates from Tuberculosis Patients (Supervised by Nirmawati Angria and A. Meryam Susanti)

Tuberculosis (TB) is an infectious disease caused by the bacterium Mycobacterium tuberculosis. The esxA gene is located on the M. tuberculosis chromosome within Region of Difference 1 (RD1). This gene encodes the ESAT-6 protein, one of the major proteins secreted by the bacterium through the ESX-1 secretion system, which is a key virulence factor of the tuberculosis pathogen.

The ESAT-6 protein is secreted via the ESX-1 secretion system and plays an important role in facilitating bacterial escape from the phagosome within host cells, evading destruction by the immune system, and inducing a characteristic immune response in tuberculosis.

The aim of this study was to detect the esxA gene in suspected tuberculosis patients using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method. This research employed a qualitative descriptive design by conducting laboratory tests using Mycobacterium tuberculosis (MTB) isolate samples at the Hasanuddin University Medical Research Center (HUMRC), which met the established inclusion and exclusion criteria.

The results showed the presence of a DNA band in sample 001 with a target size of 339 bp. Therefore, it can be concluded that among the 15 MTB samples examined, only one sample was positive for the esxA gene.

Keywords: esxA Gene, Tuberculosis, Mycobacterium tuberculosis, Percentage, PCR



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Mycobacterium tuberculosis (MTB) adalah penyebab tuberkulosis (TB). Ini adalah salah satu penyakit menular yang paling sering terjadi di dunia dan penyebab utama kematian akibat infeksi bakteri. Bakteri ini ditularkan melalui droplet yang dikeluarkan saat batuk, bersin, berbicara, atau meludah dari orang yang terinfeksi (Triani dkk.,2023).

Mycobacterium tuberculosis (*M. Tuberculosis*) merupakan patogen intraseluler yang ditularkan melalui inhalasi droplet yang berbentuk aerosol. Sel imun bawaan di paru-paru, terutama makrofag, sel dendritik, monosit, dan neutrofil, dengan mudah memfagositosis. *M. tuberculosis* dan merupakan pembela awal patogen tersebut. Transformasi fagosom yang mengandung bakteri menjadi antimikoba yang diasamkan merupakan prinsip utama pertahanan terhadap *M. tuberculosis* (Rizana dkk.,2022).

Tuberkulosis hingga saat ini masih menjadi masalah kesehatan di dunia. Tuberkulosis merupakan penyakit infeksius dengan tingkat mortalitas yang tinggi meskipun untuk penyebarannya bisa dicegah. Menurut WHO, sekitar 10.6 juta orang di dunia terinfeksi TB pada tahun 2021 dengan 1.6 juta orang meninggal disebabkan oleh TB. Sebagian besar kasus TB ada pada negara berkembang, salah satunya di Indonesia (WHO, 2022). Pada tahun 2022, Indonesia memiliki beban penyakit Tuberkulosis tertinggi ketiga di dunia setelah India dan China (Indonesia JEMM, 2020), kemudian pada tahun 2023, menurut

Menurut Laporan Tuberkulosis Global 2023, Indonesia memiliki jumlah pasien TB tertinggi kedua di dunia, dengan perkiraan 969.000 kasus. Peningkatan ini terjadi dikarenakan adanya disrupsi dari pandemi COVID-19 (Fadhilah dkk.,2024).

Data Kemenkes RI, Kementerian Kesehatan Indonesia, menunjukkan bahwa terdapat 443.236 kasus tuberkulosis yang dilaporkan di Indonesia pada tahun 2024, meningkat dari 393.323 kasus pada tahun 2020. Terdapat 724.309 kasus TB yang ditemukan dan diobati di Indonesia pada tahun 2022 dibandingkan dengan 443.235 kasus yang ditemukan dan dibuat pada tahun 2021. Total kasus yang dilaporkan adalah 543.874 kasus, dan pada tahun 2023 terdapat 820.789 kasus (Kemenkes RI, 2024).

Kementerian Kesehatan (2023) melaporkan bahwa pada tahun 2022, terdapat 824.000 kasus TB di Indonesia, yang mengakibatkan angka kematian tahunan sebesar 93.000, atau 11 kematian setiap jam. Dengan 54.863 kasus TB, Provinsi Jawa Timur berada di posisi kedua setelah Jawa Barat (Ahmadi, Hidayat, & Muzaki, 2023).

Berdasarkan data Sulawesi Selatan, angka prevalensi TB meningkat signifikan pada tahun 2023, dengan total 25.378 kasus yang dilaporkan. Estimasi pemerintah pusat untuk beban kasus di wilayah ini adalah 40.075 kasus. Kasus TB pada anak juga menunjukkan kenaikan menjadi 1.477 kasus, yang menandai pentingnya deteksi dini di kelompok rentan seperti anak-anak dan ibu hamil. Sebagian besar kasus ditemukan melalui skrining aktif yang dilakukan oleh Dinas Kesehatan Provinsi (Kemenkes RI, 2023).

Antigen yang mungkin bermanfaat dalam diagnosis tuberkulosis paru telah diidentifikasi dalam beberapa tahun terakhir. Gen-gen tersebut adalah gen dari Regions of Difference (RD) 1–3. Bacillus Calmette-Guérin (BCG) M. bovis tidak memiliki gen RD1–RD3, yang memungkinkan M. tuberculosis menyebarkan patogenisitasnya. *esxA* (*Early secretory antigenic target-6 atau ESAT-6*) dan protein 64 M. tuberculosis (MPT-64) adalah protein yang dikode oleh gen RD1–RD3. CFP-10 adalah protein filtrat kultur 10-kDa (Dewi et al.,2022).

Gen *esxA* adalah gen pada *Mycobacterium tuberculosis* (M. tuberculosis) yang mengkode protein ESAT-6 (*Early Secreted Antigenic Target – 6 kDa*). Bagian dari *Region of Difference 1* (RD1**)** pada genom M. tuberculosis. Termasuk dalam ESX-1 secretion system (*Type VII secretion system*), bersama gen *esxB* (CFP-10) yang Menghasilkan protein ESAT-6, yang disekresikan oleh bakteri ke dalam sel inang. Bersama CFP-10, membentuk kompleks yang penting untuk menembus membran fagosom makrofag, Membantu bakteri keluar ke sitosol sel inang dan memicu respon imun pada inang (Dewi et al.,2022).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kurniati (2019) menjelaskan bahwa Selain sebagai kandidat vaksin TB, gen Gen *esxA* (*Early secretory antigenic target-6 atau ESAT-6*) digunakan pula sebagai imunodiagnostik TB. Kemampuan antigen ESAT-6 untuk menstimulasi limfosit T melepaskan IFN-γ, yang berkontribusi pada imunitas seluler terhadap tuberkulosis, telah dibuktikan

dalam berbagai penelitian. ESAT-6 juga diketahui sebagai antigen immunodominant yang terkandung dalam serum pasien TB (Diah dkk.,2022).

Untuk deteksi cepat tuberkulosis invasif, pendekatan molekuler reaksi berantai polimerase (PCR) telah muncul sebagai tes laboratorium yang diterima dan andal. Pendekatan diagnostik terbaik untuk mendeteksi gen adalah dengan menggunakan reaksi berantai polimerase (PCR), yang mungkin lebih sensitif daripada teknik manual pada berbagai spesimen (Ahmadi *et al*., 2023).

Berdasarkan uraian diatas, maka peneliti tertarik untuk mendeteksi gen *EsxA* pada *Mycobacterium tuberculosis* terhadap pasien tuberkulosis menggunakan metode PCR konvensional.

B. Rumusan masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini apakah terdeteksi Deteksi Gen *esxA* Pada Suspek Penderita *Tuberculosis* Dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)?

C. Tujuan penelitian

Adapun tujuan penelitian ini yaitu untuk Deteksi Gen *esxA* Pada Suspek Penderita *Tuberculosis* Dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

D. Manfaat penelitian

1. Manfaat teoritis

   Hasil penelitian dilakukan dapat dijadikan sebagai referensi dalam melakukan penelitian mengenai Deteksi Gen *esxA* Pada Suspek Penderita *Tuberculosis* Dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

2. Manfaat praktis

a. Bagi Institusi

Sebagai informasi dan bahan bacaan sekaligus sebagai literatur pada bidang Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky Makassar tentang Deteksi Gen ExsA pada isolat *Mycobacterium tuberculosis* pada pasien *tuberculosis*.

b. Bagi profesi teknologi laboratorium medis

Sebagai informasi dan masukan bagi tenaga laboratorium khususnya pada bidang biologi molekuler dan bakteriologi.

c. Bagi peneliti

Sebagai tambahan ilmu pengetahuan khususnya di bidang biologi molekuler dan bakteriologi guna mengaplikasikan dalam dunia kerja kedepannya dan mengembangkan wawasan keilmuan penelitian.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Tuberkulosis (TB)

1. Definisi Tuberkulosis

Tuberkulosis adalah penyakit menular yang menyerang paru-paru. Penyakit ini menyebar ke orang dengan BTA positif melalui droplet nuklei yang keluar saat pasien bersin atau batuk. Orang yang sehat dapat menghirup bakteri di udara, yang dapat menyebabkan infeksi (Tamunu dkk.,2022).

Mycobacterium tuberculosis adalah bakteri penyebab tuberkulosis, suatu penyakit menular. Meskipun organ lain juga dapat terdampak, paru-paru adalah organ utama yang terdampak. Salah satu penyebab kematian terkait penyakit menular paling umum di dunia, terutama bagi penderita HIV/AIDS, adalah tuberkulosis. WHO memperkirakan terdapat hampir 10 juta kasus baru TB di seluruh dunia pada tahun 2020, dengan lebih dari 1,2 juta kematian di antara orang tanpa HIV dan 214.000 kematian di antara orang dengan HIV (WHO, 2022).

Tuberkulosis (TB) bakteri yang menginfeksi berbentuk gram positif berbentuk batang yang bersifat aerobik dan tahan asam. Bakteri ini merupakan anggota utama dari kompleks *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) yang meliputi patogen lain seperti *M. bovis*, *M. africanum*, dan *M. microti* (Miggiano dkk.,2020).

2. Etiologi dan transmisi Tuberkulosis

Lima mikroorganisme berikut ini berkaitan erat dengan infeksi tuberkulosis: Mycobacterium bovis, Mycobacterium africanum, Mycobacterium microti, Mycobacterium canettii, dan Mycobacterium tuberculosis. Bakteri M. tuberculosis tersebar luas dan menyebar dari orang ke orang melalui udara (Nortajulu, 2022).

Tidak ada satupun hewan yang diketahui dapat menularkan MTB. Namun, ketika manusia minum susu dari sapi yang terinfeksi, M. bovis dapat hidup di sana, menyusup ke sistem limfatik orofaringeal, dan menembus mukosa gastrointestinal (Nortajulu, 2022).

Cara paling umum penyebaran tuberkulosis melalui udara adalah melalui droplet atau inti droplet (kurang dari 5 mikron) yang dikeluarkan saat penderita tuberkulosis laring atau paru batuk, bersin, atau berbicara. Selain itu, droplet juga dapat dihasilkan selama teknik pemeriksaan yang menghasilkan produk aerosol, seperti bronkoskopi atau induksi sputum, pada pasien tuberkulosis paru. Droplet adalah partikel kecil yang sangat menular dengan ukuran berkisar antara 1 hingga 5 μm, mengandung 1 hingga 5 basil, dan dapat bertahan di atmosfer hingga 4 jam. Karena ukurannya yang sangat kecil, droplet ini dapat memasuki area alveolus paru-paru, tempat bakteri berkembang biak (Dwi, Putra, 2024).

Transmisi MTB ditentukan oleh tiga elemen, yaitu:

1) jumlah makhluk hidup yang dibuang ke atmosfer.
2) Ventilasi dan ukuran ruangan berdampak pada jumlah organisme di udara.

3) Jumlah waktu yang dihabiskan untuk menghirup udara yang tercemar.

Bersin sekali saja dapat melepaskan hingga satu juta droplet kecil, dan batuk sekali saja dapat melepaskan hingga 3.000 droplet. Infeksi TB membutuhkan satu hingga sepuluh basil. Hasil apusan dahak positif dengan skor 3+ menunjukkan kasus yang paling menular. Pasien dengan hasil apusan dahak negatif kurang menular. Pasien TB laten tidak mampu bereproduksi dan menularkan penyakit ke makhluk hidup lainnya (Hikmah & Tarigan, 2022).

Bakteri yang dikenal sebagai Mycobacterium tuberculosis adalah penyebab tuberkulosis. Bakteri ini berukuran 0,5–4 mikrometer, berbentuk batang tipis, lurus, atau melengkung, dan memiliki lapisan luar tebal yang terbuat dari lipoid, bukan granula atau tanpa selubung. Bakteri ini umumnya disebut bakteri tahan asam (BTA) karena kemampuannya yang unik untuk menahan asam. Sinar matahari langsung langsung menghancurkan bakteri TB ini, tetapi dapat bertahan hidup selama beberapa jam di lingkungan yang lembab dan gelap (Salsabila et al., 2021).

Lurus atau sedikit melengkung, Mycobacterium tuberculosis adalah bakteri berbentuk batang yang tidak menghasilkan spora atau membungkus dirinya sendiri. Ukurannya antara 0,3 dan 0,6 mm lebar dan 1-4 mm panjang. Lapisan lipid yang relatif tinggi (60%) membentuk dinding sel kompleks Mycobacterium TB. Asam mikolat adalah komponen utama dinding sel Mycobacterium tuberculosis. Ini adalah asam lemak rantai panjang yang terhubung ke peptidoglikan oleh jembatan

fosfodiester dan ke arabinogalaktan oleh ikatan glikolipid. Polisakarida membentuk komponen lain dari dinding sel bakteri. Karena konstruksi dinding selnya yang rumit, Mycobacterium tuberculosis tahan asam, yang berarti bahwa setelah diwarnai, ia tidak akan dihilangkan dengan menggunakan larutan asam-alkohol (Aldina, 2025).

Berikut adalah Taksonomi dan Morfologi *Mycobacterium tuberculosis*.

Phylum : *Actinobacteria*

Ordo : *Actinomycetales*

Family : *Mycobacteriaceae*

Genus : *Mycobacterium*

Spesies : *Mycobacterium tuberculosis*

Kingdom : *Bacteria* (Giri Putra, 2020).

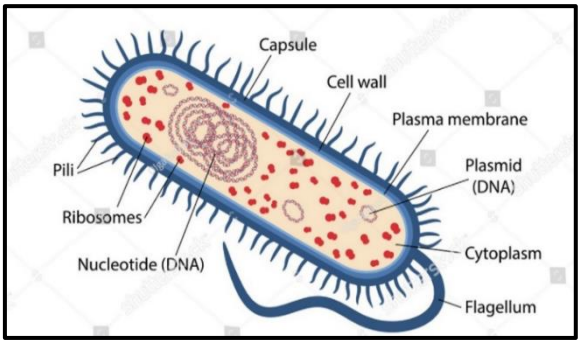
*Mycobacterium tuberculosi*s merupakan bakteri yang tumbuh secara lambat di dalam sel (intraseluler). Ciri utama yang membedakan Mycobacterium tuberculosis dari bakteri lain adalah kemampuannya mempertahankan rona merah fuchsin saat dihilangkan warnanya dengan alkohol dan asam dalam pewarnaan apusan (Nugroho, 2021).

Mycobacterium TB memiliki struktur dinding sel yang rumit dan antigenik. Dinding sel Mycobacterium tuberculosis sangat penting untuk interaksinya dengan sel imun inang. Dinding sel mengandung bahan antigenik seperti lipoarabinomannan, fosfolipid, lipoprotein, dan asam mikolat yang mengandung glikolipid. Reaksi tuberkulin dapat dipicu oleh

protein di dinding sel Mycobacterium tuberculosis yang menempel pada lipid. Sebagian besar antigen dinding sel menginduksi hipersensitivitas tipe lambat (Tamunu et al., 2022).

Selama bertahun-tahun, bakteri ini dapat tetap laten di jaringan tubuh. Ketika pasien TB batuk atau bersin, penyakit ini disebarkan oleh droplet yang dikeluarkan, yang membawa kuman TB. Tuberkulosis tidak mudah menyebar, meskipun penyebarannya mirip dengan flu. Agar seseorang dapat tertular penyakit ini, ia harus melakukan kontak dengan orang yang terinfeksi dalam beberapa jam. Infeksi tuberkulosis, misalnya, biasanya menyebar di antara anggota keluarga yang tinggal bersama (Wiratma, 2023).

Penyakit infeksi ini menyebar melalui udara, dan penghisapan air liur yang berisi *Mycobacterium Tuberculosis.* Sehingga seseorang yang terkena infeksi ini dapat menyebarkan partikel kecil melalui batuk, bersin, atau berbicara ataupun bila kita berhubungan dekat dengan mereka yang terinfeksi (Anam & Rahmawati, 2022).



Gambar 2.2 Struktur *Mycobacterium tuberculosis*
(Lendra, 2021)

3. Epidemiologi tuberkulosis

Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* adalah penyebab penyakit menular tuberkulosis. Di dunia, tuberkulosis merupakan agen infeksi yang paling umum dan salah satu dari sepuluh penyebab kematian teratas. Diperkirakan 10 juta kasus baru tuberkulosis dilaporkan secara global pada tahun 2017, dengan 90% kasus terjadi pada orang dewasa (di atas 15 tahun) dan dua pertiganya terjadi di delapan negara dengan beban tinggi: Afrika Selatan (3%), Bangladesh (4%), Nigeria (4%), Tiongkok (9%), Indonesia (8%), Filipina (6%), Pakistan (5%), dan India (27%) (Abbas, 2022).

Setelah Tiongkok dan India, insiden tuberkulosis berada di peringkat ketiga tertinggi di Indonesia. Diperkirakan terdapat 845.000 kasus baru tuberkulosis paru (770.000–923.000) pada tahun 2019, dengan 19.000 di antaranya positif HIV. Diperkirakan terdapat 4.700 kematian dari pasien TB-positif dan 92.000 kematian dari individu TB-negatif (Programmer, 2022).

Pada tahun 2018, 0,4% penduduk Indonesia menderita tuberkulosis, menurut data Kementerian Kesehatan. Tiga provinsi memiliki prevalensi tertinggi: Jawa Barat (0,63%), Banten (0,76%), dan Papua (0,77%). Di Indonesia, terdapat 824.000 kasus tuberkulosis dan 93.000 kematian akibat penyakit ini per tahun, atau 11 kematian setiap jam. Setelah Jawa Barat, Provinsi Jawa Timur memiliki jumlah kasus TB tertinggi kedua dengan 54.863 kasus (Kementerian Kesehatan RI, 2023).

4. Patofisiologi Tuberkulosis

Bakteri tuberkulosis dilepaskan ke udara sebagai droplet ketika seseorang batuk atau bersin. Setelah melewati sistem pernapasan, kuman tersebut berkumpul dan berkembang biak di alveoli. Bakteri ini juga dapat menyebar ke organ tubuh lainnya, termasuk ginjal, tulang, dan otak, serta bagian paru-paru lainnya, melalui sistem limfatik dan peredaran darah (Lendra et al., 2021).

Kompleks utama, atau peradangan paru-paru, merupakan hasil infeksi yang disebabkan oleh bakteri tuberkulosis yang berhasil membelah diri di paru-paru. Infeksi dan perkembangan kompleks utama membutuhkan waktu empat hingga enam minggu. Setelah peradangan, terjadi kehilangan jaringan paru-paru, peningkatan sekresi, dan penurunan suplai oksigen (Anam & Rahmawati, 2022).

Respons seluler sistem imun mengatur tuberkulosis. Sel imunoresponsif adalah limfosit, sebagian besar sel T, sedangkan sel efektor adalah makrofag. Respons semacam ini biasanya bersifat lokal dan melibatkan makrofag yang telah diaktifkan oleh limfosit dan limfokinnya di lokasi infeksi. Istilah "reaksi hipersensitivitas tertunda" menggambarkan reaksi ini (Syarif & Ayuningsih, 2020).

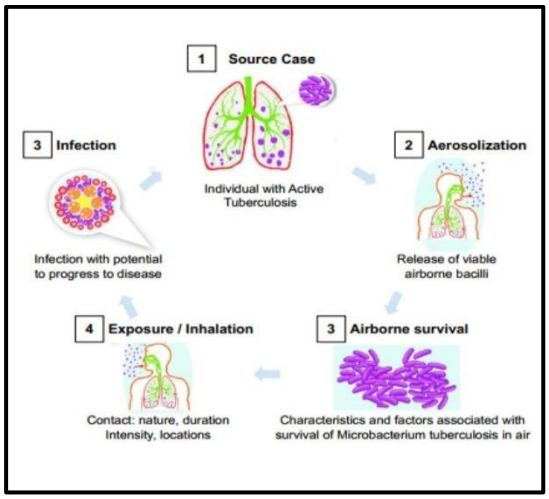
Lesi nekrotik yang dikenal sebagai nekrosis kaseosa memiliki tampilan yang relatif padat dan seperti keju akibat nekrosis di bagian tengah lesi. Jaringan granulasi yang mengelilingi nekrosis kaseosa, yang terdiri dari fibroblas dan sel epiteloid, bereaksi secara berbeda. Jaringan granulasi yang

lebih fibrosa pada akhirnya akan membentuk jaringan parut, yang membungkus tuberkulum dalam kapsul (Febriani, 2022).

Istilah "fokus Ghon" mengacu pada lesi paru primer, sedangkan "kompleks Ghon" mengacu pada keterlibatan kelenjar getah bening regional selain lesi inti. Likuifaksi adalah reaksi lain yang dapat terjadi pada area nekrotik; dalam hal ini, material cair dibuang ke dalam bronkus, membentuk rongga. Substansi tuberkular memasuki percabangan trakeobronkial setelah dikeluarkan dari dinding berongga. Area paru-paru lain mungkin mengalami proses ini lagi, atau basil dapat diangkut ke usus besar, telinga tengah, atau laring. Tanpa intervensi medis, rongga-rongga kecil dapat tertutup dan meninggalkan jaringan paru-paru setelah peradangan mereda. Di dekat tepi rongga bronkial, jaringan parut dapat menyempit dan mengaburkan lumen bronkial. Ketika material susu mengental, material tersebut menjadi tidak mungkin melewati saluran penghubung, mengisi rongga dan membuat lesi tampak seperti lesi berkapsul yang mustahil dihilangkan. Kondisi ini dapat terhubung kembali dengan bronkus dan menjadi area peradangan aktif, atau dapat menyebabkan ketidaknyamanan dalam jangka waktu yang lama (Rorimpandey, 2023).

Penyakit ini dapat menyebar melalui pembuluh darah atau sistem limfatik. Sejumlah kecil organisme yang keluar dari kelenjar getah bening memasuki aliran darah dan berpotensi merusak berbagai organ lain. Penyebaran limfohematogen adalah istilah untuk penyebaran semacam ini, yang biasanya sembuh dengan sendirinya. Tuberkulosis milier biasanya

disebabkan oleh kondisi akut yang dikenal sebagai penyebaran hematogen. Hal ini terjadi ketika arteri darah rusak oleh fokus nekrotik, yang memungkinkan banyak organisme memasuki sistem vaskular dan menyebar ke berbagai organ (Fortuna, 2022).



Gambar 2.3 Patofisiologi Tuberkulosis Paru
(Shi et al., 2023).

5. Faktor Resiko Tuberkulosis

Ada sejumlah kategori demografi yang lebih rentan tertular tuberkulosis, termasuk:

1) Mereka yang menderita HIV dan penyakit lain yang mempengaruhi sistem kekebalan tubuh.
2) Mereka yang menggunakan obat imunosupresif dalam jangka waktu panjang.
3) Perokok.
4) Konsumsi alkohol tinggi.
5) Anak usia <5 tahun dan lansia.

6) Berada di dekat seseorang yang menderita tuberkulosis aktif yang menular (Romi, 2020).

6. Diagnosis Laboratorium

Menetapkan diagnosis yang cepat dan tepat serta pengobatan dini bagi pasien TB merupakan bagian penting dari pengendalian TB dan upaya untuk mencegah penyebaran penyakit lebih lanjut. Saat ini, pemeriksaan laboratorium untuk diagnosis tuberkulosis paru memiliki beberapa kekurangan, termasuk sensitivitas mikroskopiS FB yang rendah, prosedur kultur yang rumit, dan teknik molekuler yang membutuhkan pengetahuan khusus. Oleh karena itu, satu teknik telah diakui sebagai cara paling handal untuk mendiagnosis tuberkulosis. Metode biakan sputum merupakan metode baku emas (*gold standard*) untuk mendiagnosis Tuberkulosis paru (Febriani et al., 2022).

Berdasarkan riwayat, gejala, dan indikator pasien saja, dokter dapat mendiagnosis separuh pasien dengan tepat. Sementara itu, hingga 80% kasus dapat didukung oleh pemeriksaan radiologi, endoskopi, histologi, dan mikrobiologi. Ketika granuloma dan/atau basil tahan asam ditemukan selama biopsi, tuberkulosis kolon dapat didiagnosis secara definitif. Hanya 60–80% kasus yang dapat dideteksi melalui biopsi lesi. Pada kasus tuberkulosis ekstra paru, prosedur diagnostik yang memakan waktu seperti tes Mantoux, kultur Mycobacterium tuberculosis, pewarnaan basil tahan asam pada biopsi atau sputum, dan rontgen dada seringkali memberikan hasil negatif (Fortuna et al., 2022).

Tes yang sering digunakan untuk mengidentifikasi tuberkulosis paru meliputi hal berikut:

a. **Metode *Ziehl-Neelsen***

Karbol-fuchsin adalah pewarna asam yang digunakan dalam pewarnaan Ziehl-Neelsen (ZN), yang umumnya disebut sebagai pewarnaan bakteri tahan asam atau sering disebut pewarnaan AFB. Franz Ziehl (1859–1926), seorang ahli bakteriologi, dan Friedrich Neelsen (1854–1894), seorang ahli patologi, adalah dua dokter Jerman yang pertama kali menyarankan pewarnaan ini. Pewarnaan bakteri yang umum untuk organisme dan bakteri tahan asam, khususnya Mycobacterium tuberculosis, adalah pewarnaan ZN. Bakteri yang paling signifikan dalam kategori ini, Mycobacterium tuberculosis, adalah agen penyebab tuberkulosis. Karena dindingnya yang sangat kaya lipid, Mycobacterium TB sulit dideteksi dengan pewarnaan Gram (Shi et al., 2023).

Tes ZN merupakan tes sederhana untuk menentukan keberadaan Mycobacterium tuberculosis (BTA) dalam spesimen. Mycobacterium leprae penyebab kusta dan mikroba bakteri lainnya juga dapat dideteksi menggunakan pewarnaan ini. Pasien yang mungkin terinfeksi Mycobacterium TB, agen penyebab tuberkulosis, akan menjalani tes ZN. Bakteri ini dapat diinfeksi dengan menganalisis sputum kapan saja (S-P-S) sebelum pemeriksaan kultur (Miggiano et al., 2020).

Tuberkulosis biasanya didiagnosa melalui kultur, biasanya dari dahak. Pemeriksaan kultur biasanya memakan waktu enam bulan atau

lebih. Media kultur seperti media berbasis agar Middlebrook dan media berbasis telur Löwenstein Jansen dapat digunakan untuk membudidayakan bakteri ini. Metode Ziehl-Neelsen digunakan untuk mengidentifikasi AFB, yang secara teoritis memiliki lapisan lemak dan lilin yang menyulitkan pewarna untuk melewatinya. Pewarna fuchsin dasar menembus lapisan lilin dan lemak akibat pemanasan dan efek fenol. Lapisan lemak dan lilin yang terpapar akan terbentuk kembali setelah dicuci. Pada pencucian dengan asam alkohol warna *fuchsin* tidak dilepas. Sedangkan pada bakteri tidak tahan asam akan luntur dan mengambil warna biru dari *methylen blue*. Diagnosis ini dapat ditegakkan apabila ditemukan satu atau dua sediaan apus sputum dengan BTA positif (de Oliveira, 2023).

Fungsi dari pemberian larutan pada metode *Ziehl-Neelsen* untuk mengidentifikasi organisme tahan asam. WHO juga merekomendasikan standar interpretasi untuk menegakkan diagnosis tuberkulosis paru yaitu sesuai dengan standar *International Union Against Tuberculosis And Lung Disease* (IUATLD). Pembacaan hasil pemeriksaan sediaan sputum dilakukan dengan menggunakan skala IUATLD (*International Union Against Tuberculosis and Lung Diseases*) sebagai berikut (Fauziah, 2020).

Table 1.1 Pembacaan Hasil Menggunakan Skala IUATLD.

Pembacaan dibawah Mikroskop	Pelaporan Hasil
Tidak ditemukan BTA	Neg.

pada 100 lap pandang	
1-9 BTA dalam 100 lapangan pandang	Tulis jumlah BTA yang ditemukan
10-99 BTA dalam 100 lapangan pandang	+1
1-10 BTA dalam 1 lapangan pandang	+2
>10 BTA dalam 1 lapangan pandang	+3

Sumber : (Wiratma et al., 2023)

Pilihan pertama untuk identifikasi dini infeksi TB tetaplah teknik pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan Ziehl-Neelsen (ZN). Metode ini dianggap lebih sederhana, lebih murah, lebih efektif, dan sangat spesifik untuk mengidentifikasi basil tahan asam (BTA) dalam dahak. Selain itu, semua unit laboratorium, bahkan yang paling dasar sekalipun, dapat menggunakan teknik ini (Supriyatin, 2023).

Teknik pewarnaan, kualitas dan kuantitas spesimen, prevalensi TB, serta staf dan sumber daya laboratorium yang melakukan tes, semuanya mempengaruhi sensitivitas pemeriksaan mikroskopis dahak. Dahak yang mengandung setidaknya 105 AFB/ml akan memberikan hasil positif jika diperiksa menggunakan prosedur pewarnaan Ziehl-Neelsen (ZN). Data pewarnaan Ziehl-Neelsen (ZN) harus dibaca dengan lensa objektif 100x dan lensa okuler 10x. Sebagai diagnosis pendukung pada pasien tuberkulosis paru klinis, hasil pemeriksaan mikroskopis sputum AFB positif memiliki signifikansi diagnostik yang sangat baik. Namun, diagnosis tuberkulosis paru tidak dapat disingkirkan meskipun pemeriksaan mikroskopis sputum AFB negatif. Karena pemeriksaan

mikroskopis AFB memiliki spesifisitas yang tinggi, tidak adanya AFB dalam sputum yang diperiksa kemungkinan besar berarti tidak terdapat AFB (Anam & Rahmawati, 2022).

b. Metode Kultur Sputum

Salah satu metode yang sering digunakan dalam mendiagnosa adanya infeksi yaitu dengan menggunakan metode kultur sputum yang dimana merupakan metode baku emas (*gold standard*) untuk diagnosis tuberkulosis paru dengan cara pengambilan sampel dahak pada suspek pasien tuberkulosis (Lendra et al., 2021).

Diagnosis, efektivitas pengobatan, dan kemungkinan penularan efektif semuanya ditentukan oleh pemeriksaan dahak. Tiga spesimen dahak berupa dahak SPS dikumpulkan selama dua hari kunjungan berturut-turut untuk melakukan pemeriksaan dahak dan menegakkan diagnosis pada semua tersangka tuberkulosis. Dahak yang dikumpulkan atau disimpan di fasilitas pelayanan kesehatan (Fasyankes) pada kunjungan pertama tersangka tuberkulosis dikenal sebagai dahak "sesaat". Pada hari kedua, tersangka membawa pulang pot dahak untuk mengumpulkan dahak di pagi hari. Dahak pagi, atau dahak P, adalah dahak yang dikumpulkan di rumah pada pagi kedua, segera setelah pasien bangun. Di sana, sampel dibawa dan diberikan kepada tenaga medis. Setelah pasien datang untuk menyerahkan dahak pagi pada hari kedua, fasilitas pelayanan kesehatan akan mengumpulkan dahak S (di rumah). Ketika bakteri TB AFB ditemukan, tuberkulosis paru pada orang dewasa

dan remaja didiagnosis. Pemeriksaan ini juga memiliki kelebihan namun juga memiliki beberapa kekurangan dalam proses diagnosanya (Basil Tahan Asam) (Syarif & Ayuningsih, 2020).

Sputum pasien harus dievaluasi untuk asal, warna, volume, dan konsistensi. Karena produksi sputum sering mewakili rangkaian peristiwa patologis tertentu dalam produksi sputum. Klasifikasi dahak dan penyebabnya antara lain sebagai berikut :

1) Muntah yang menghasilkan dahak juga dapat berasal dari sinus atau hidung dan bukan dari sistem pernapasan bagian bawah.
2) Selain itu, proses supuratif (seperti abses paru-paru) menyebabkan sejumlah besar dahak menjadi purulen.
3) Dahak yang membesar seiring waktu merupakan indikasi bronkitis dan bronkiektasis.
4) Warna kekuningan pada dahak menunjukkan adanya proses infeksi.
5) Ketika nanah menumpuk di dalam dahak, PNM (pneumonia) menghasilkan verdoperoksidase, yang memberikan warna kehijauan pada dahak. Karena dahak menumpuk di bronkus yang terinfeksi dan kemudian membesar, dahak ini biasanya terlihat pada pasien bronkiektasis.
6) Edema paru berat ditandai dengan dahak berwarna merah muda dan berbusa.
7) Salah satu tanda bronkitis kronis adalah dahak berlendir kental, berwarna putih, atau keabu-abuan.

8) Dahak yang berbau busuk merupakan indikasi bronkiektasis (Febriani et al., 2022)

Pasien biasanya diberitahu bahwa tes sedang dilakukan agar sputum dapat dikumpulkan sesuai dengan protokol pemeriksaan. Untuk mengumpulkan sputum dari paru-paru, idealnya pasien diinstruksikan untuk mengeluarkan dahak; jika tidak, biasanya yang akan dikumpulkan adalah air liur, bukan dahak (Rorimpandey et al., 2023).

Kelebihan pemeriksaan ini adalah biayanya murah. Namun juga memiliki kelemahan. Kelemahannya antara lain, dalam sputum harus terkandung minimal 5000 kuman/ml sputum untuk mendapatkan hasil positif. Fakta bahwa dokter terkadang kesulitan mendiagnosis tuberkulosis pada pasien dengan data mikroskopis yang buruk (meragukan atau tidak memenuhi kriteria) merupakan kelemahan lain dalam penafsiran hasil laboratorium (Fortuna et al., 2022)



Gambar 2.5 **Pemeriksaan Kultur Sputum BTA**
(Shi et al., 2023)

c. Pemeriksaan *interferon gamma release assays* (IGRAS)

WHO *Policy Statement* mengatakan bahwa *"Use Of Alternative Interferon-Gamma Release Assays For Diagnosis Of Tuberculosis Infection"* yang dimana WHO menegaskan bahwa tes *interferon gamma*

release assays (IGRAS) dapat digunakan sebagai acuan dalam mendiagnosa tuberkulosis. Untuk mendeteksi keberadaan infeksi mycobacterium TB, uji pelepasan interferon gamma (IGRA) dikembangkan setelah ditemukan bahwa interferon gamma berperan penting dalam mengendalikan respons imun seluler pada infeksi mycobacterium tuberculosis (de Oliveira et al., 2023).

Interferon gamma release assays (IGRA) mendeteksi adanya sensitisasi *mycobacterium tuberculosis* dengan mengukur pelepasan IFN-γ sebagai respon terhadap antigen *mycobacterium tuberculosis*. Spesifisitas IGRA lebih unggul daripada tes tuberkulin karena antigen ESAT-6, CFP-10, dan TB7.7 yang digunakan dalam IGRA tidak terdapat pada mikobakterium lingkungan (kecuali Mycobacterium Kansasi, Mycobacterium Marinum, Mycobacterium Flavescens, dan Mycobacterium Gastri). Ketika Mycobacterium tuberculosis terdapat, antigen-antigen ini menjadi target utama limfosit. Orang yang telah menerima Bacillus Calmette-Guérin (BCG) dan orang yang belum mengembalikan tes tuberkulin disarankan untuk menggunakan IGRA. IGRA saat ini disarankan untuk diagnosis infeksi TB laten, tetapi tidak untuk TB aktif (Dewi et al., 2022).

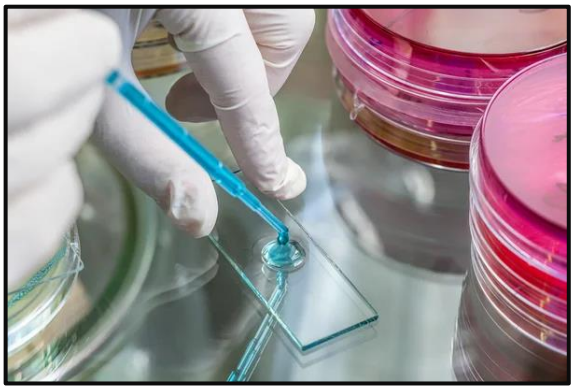
Tujuan utama IGRA adalah untuk menentukan apakah pasien perlu diobati untuk infeksi tuberkulosis laten (LTBI). Namun, karena sejumlah alasan, seperti risiko progresi penyakit yang rendah, ketidakmampuan untuk membedakan antara reaktivasi dan reinfeksi, akurasi yang buruk

pada pasien dengan sistem imun yang terganggu, dan ketidakmampuan untuk membedakan berbagai stadium spektrum LTBI, IGRA dan TST memiliki keterbatasan dalam hal ini (Programmer, 2022).

Tes IGRA sendiri lebih unggul daripada tes lain karena tidak menghasilkan hasil positif palsu pada orang yang telah di imunisasi Bacillus Calmette Guerin (BCG). Selain itu, saat ini, tes IGRA memiliki tingkat sensitivitas dan spesifisitas tertinggi. Hasil tes IGRA dapat dipengaruhi oleh sejumlah faktor, seperti kesulitan flebotomi (pengambilan darah), terutama pada anak-anak dan bayi; hasil yang tidak pasti; standarisasi tes; kebutuhan laboratorium dengan peralatan canggih untuk melakukan tes IGRA; dan biaya tes yang relatif lebih tinggi dibandingkan dengan tes tuberkulin. Tes IGRA memungkinkan dokter untuk mengukur bagaimana sistem kekebalan tubuh merespons infeksi Mycobacterium TB. Hasil tes ini akan mengungkapkan apakah seseorang menderita tuberkulosis aktif atau laten (Miggiano et al., 2020).

Dua IGRA komersial untuk deteksi infeksi Mtb, QuantiFERON-TB dan T-SPOT.TB, telah disetujui oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (FDA). FDA menyetujui QFT-GIT generasi ketiga pada tahun 2007, dan saat ini digunakan secara luas. CFP-10, TB7.7(p4), dan protein perangsang koktail peptida ESAT-6 adalah antigen yang digunakan dalam QFT-GIT. Tes ini memiliki sejumlah manfaat, termasuk kemampuan untuk menilai infeksi TB dan LTBI hanya dengan satu kunjungan pasien, dibandingkan dengan dua kunjungan TST yang

diperlukan untuk membaca hasilnya, hasil tes tersedia 24 jam kemudian, dan spesifisitasnya yang lebih tinggi karena tidak sensitif terhadap vaksinasi BCG sebelumnya atau tidak adanya hasil positif dari paparan NTM, hasil positif merupakan indikasi seseorang telah mengalami infeksi tuberkulosis tetapi tidak dapat membedakan antara tuberkulosis aktif dan LTBI, Hasil tes negatif dapat menyingkirkan tuberkulosis pada orang yang imunokompeten. Keterbatasan tes ini antara lain kebutuhan untuk menangani sampel dalam waktu 12 jam setelah pengambilan darah dan minimnya informasi mengenai penerapannya dalam menilai risiko tuberkulosis. Selain itu, tes ini dapat digunakan untuk mendiagnosis LTBI dan sebagai diagnostik tambahan untuk infeksi kompleks Mtb. Meskipun infeksi mikobakterium lain, seperti Mycobacterium kansasii, juga dapat menghasilkan hasil positif, hasil positif dapat mendukung diagnosis tuberkulosis. Akurasi aplikasi IGRA ini telah diteliti, dan dapat diterapkan pada berbagai demografi, termasuk anak-anak, pasien dengan gangguan imunitas, dan tenaga medis profesional (Programmer, 2022).



Gambar 2.6 Pemeriksaan *interferon gamma release assays* (IGRA)
(Dewi et al., 2022)

d. **Uji Kulit Tuberkulin (Tes Mantoux)**

Tes *tuberkulin* (Mantoux Test) merupakan salah satu Tes diagnostic tuberkulosis untuk mendeteksi adanya infeksi *mycobacterium tuberculosis* yang dimana pada prinsipnya menguji hipersensitivitas kulit untuk antigen mikobakterium. TST hingga saat ini masih memiliki nilai tes diagnostik yang sangat tinggi. Tes ini dilakukan berdasarkan hipersensitivitas tubuh akibat infeksi *Mycobacterium* TB sebelumnya. Sel T (CMI) yang telah tersensitisasi akibat infeksi Mycobacterium TB spontan bertanggung jawab atas hal ini. Suntikan 0,1 cc uji tuberkulin (PPD RT-23 2TU atau PPD S 5TU) secara intrakutan diberikan pada bagian volar lengan bawah untuk melakukan tes ini. Setelah injeksi, reaksi tuberkulin dimulai 5–6 jam kemudian, mencapai puncak indurasi 48–72 jam kemudian, dan kemudian mereda dalam beberapa hari. Hasil pembacaan diperoleh 48–72 jam setelah injeksi. Alih-alih mengukur bagian yang eritematosa atau hiperemis, pengukuran dilakukan pada indurasi, atau benjolan kecil, yang terbentuk. Pengukuran dilakukan dengan lengan bawah sedikit ditekuk pada siku di ruangan yang terang. Milimeter digunakan untuk mengukur dan mencatat hasil pembacaan. Interpretasi metode ini melibatkan pengukuran lebar indurasi yang muncul setelah 48 hingga 72 jam. Hasil akhir interpretasi adalah: ≥ 10 mm (positif), 5-9 mm (diragukan), dan 0-4 mm (negatif) (Situmorang, 2024)

Menurut studi-studi sebelumnya di Afrika, pria lebih mungkin

mendapatkan hasil tes tuberkulin positif dibandingkan wanita. Merokok dapat menyebabkan hasil tes tuberkulin positif dan meningkatkan risiko tertular tuberkulosis. Tidak ada bukti yang menghubungkan posisi pekerjaan, pendidikan, atau pekerjaan dengan peningkatan risiko hasil tes tuberkulin (Sugeng & Rosdarni, 2021).

Hasil tes tuberkulin masih dipengaruhi oleh imunisasi Bacillus Calmette-Guérin (BCG) pada orang hingga usia 15 tahun. Hal ini menyiratkan bahwa kegagalan vaksinasi yang menyebabkan titer BCG saat ini tidak aktif selama 15 tahun merupakan salah satu penyebab yang berkontribusi jika seseorang di bawah usia 15 tahun mendapatkan hasil tes tuberkulin negatif. Tubuh juga kekurangan antibodi alami yang dibutuhkan untuk melawan infeksi TB. Orang yang mendapatkan hasil negatif dalam situasi ini harus divaksinasi ulang untuk meningkatkan titer antibodi mereka terhadap bakteri TB (Hikmah & Tarigan, 2022).

Keuntungan utama dari metode ini dari segi biaya rendah dan ketersediaan luas, penanda yang cukup baik untuk respons imun seluler terhadap *Mycobacterium sp,* Spesifisitas dapat meningkat dengan reaksi pengerasan yang lebih besar. Sedangkan kekurangan dari metode ini seperti tidak spesifik untuk *Mycobacterium tuberculosis,* tidak membedakan infeksi laten dari penyakit, adanya kemungkinan positif dengan vaksinasi BCG (basil Calmette-Guérin)/paparan terhadap mikobakterium atipikal, mungkin negatif pada kondisi imunosupresi/anak-anak/tuberkulosis ekstra paru atau milier serta

kesulitan dalam pemberian dan interpretasi tes dapat menyebabkan hasil yang salah (Tamunu et al., 2022).

e. Pemeriksaan ICT-TB (*Immunochromatography*)

Tes ini menggunakan metode observasional laboratorik. Teknik atau pengambilan sampel dilakukan menggunakan metode *purposive sampling*. Sentrifugasi dilakukan setelah darah vena fossa cubiti membeku, yang diperoleh pada hari pertama pasien tiba di laboratorium. Prinsip imunokromatografi digunakan oleh Rapid ICT untuk mengidentifikasi antibodi TB dalam serum atau plasma manusia (Wiratma et al., 2023).

Standar emas untuk mendiagnosis tuberkulosis, yaitu kultur, memiliki keterbatasan karena waktu pemrosesannya yang lama, dan pendekatan PCR yang direkomendasikan WHO cukup mahal. Pembentukan antibodi terhadap Mycobacterium tuberculosis dirangsang oleh infeksi alami. Untuk mengidentifikasi antibodi anti-Mycobacterium tuberculosis, uji serologis telah digunakan untuk membangun metode diagnostik yang cepat. Imunokromatografi (ICT), metode yang dikembangkan, mencakup Ig total, IgG, dan IgM serta IgG campuran dengan IgM dan IgA. Metode ini tersedia secara komersial dalam format kaset (Anam & Rahmawati, 2022).

Banyak peneliti telah melakukan uji ini, termasuk penelitian Nutrisi Rachmayanti tahun 2020, yaitu penelitian observasional analitik yang dilakukan di Rumah Sakit Dr. Soetomo Surabaya antara November 2017

hingga Mei 2018. Pasien yang berusia di atas delapan belas tahun dan diduga menderita infeksi tuberkulosis paru, yang dinyatakan positif mengidap penyakit tersebut dalam Tes Cepat Molekuler (TCM) dan pemeriksaan mikroskopis BTA, dan yang menandatangani formulir persetujuan yang menyatakan kesediaan mereka untuk berpartisipasi dalam penelitian dimasukkan ke dalam kelompok tuberkulosis. Pasien yang telah didiagnosis secara klinis, radiologis, atau patologis dengan penyakit paru selain tuberkulosis dimasukkan ke dalam kelompok non-tuberkulosis. Penelitian ini mengecualikan pasien yang sedang menjalani pengobatan tuberkulosis dan sampel yang mengalami hemolisis, lipemik, atau penyakit kuning. Tiga mililiter darah kemudian diekstraksi dari setiap partisipan penelitian. Sentrifugasi dilakukan selama 15 menit pada kecepatan 1500 g untuk mendapatkan serum. Serum disimpan dalam alikuot pada suhu -80ºC di dalam lemari pendingin hingga dianalisis menggunakan Tes Cepat Encode TB IgG dan IgM (nomor lot 20170433) dari Tiongkok (Lendra et al., 2021).

Metode yang digunakan adalah *lateral flow chromatographic immunoassay* dengan prinsip *double antigen sandwich.* Dalam penelitian ini, spesifisitasnya tinggi hasil positifnya tetap dianggap Tuberkulosis, tapi sensitivitasnya rendah sehingga hasil negatifnya bisa terjadi tidak mengecualikan tuberkulosis. Sensitivitas anti tuberkulosis IgG dan IgM lebih rendah dibandingkan rapid test IgG/IgM tuberkulosis tidak direkomendasikan untuk digunakan sebagai single tes diagnostik

untuk diagnosis paru tuberkulosis tetapi harus dikombinasikan dengan klinis dan pemeriksaan laboratorium lanjutan. Berdasarkan hasil penelitian ini, memang demikian dianjurkan untuk meningkatkan sensitivitas Mengkodekan tes Tuberkulosis dengan memilih antigen yang lebih spesifik dengan konsentrasi yang tepat. Itu juga perlu untuk mengembangkan penelitian lebih lanjut untuk menggabungkan *Encode* Tes Tuberkulosis dengan tes diagnostik lainnya untuk meningkatkan sensitivitas diagnostic (Syarif & Ayuningsih, 2020).

Tes serologis ICT-TB menawarkan banyak manfaat bagi inisiatif pengendalian tuberkulosis, terutama di negara-negara endemis dan miskin. Kekurangan metode ini antara lain reaktivitas silang dan, dalam beberapa percobaan, sensitivitas dan spesifisitasnya bervariasi. Kekebalan pasien, stadium penyakit, dan antigen yang digunakan dapat mempengaruhi variasi ini (Syarief & Ayuningsih, 2020).

Metode ICT-TB untuk tes TB memiliki nilai sensitivitas 50%, artinya hanya 50% hasil tes yang dapat mengidentifikasi orang yang terinfeksi. Metode ICT-TB dapat digunakan sebagai alat skrining tuberkulosis, namun tidak dapat digunakan sebagai alat diagnostik tuberkulosis karena nilai sensitivitasnya yang rendah, hanya 50%. Karena tidak tersedianya tes baku emas tambahan seperti kultur bakteri dan analisis molekuler GeneXpert MTB, analisis serologis tuberkulosis menggunakan metode ICT-TB harus dilakukan bersamaan dengan pemeriksaan mikroskopis (Syarif & Ayuningsih, 2020).



Gambar 2.8 Prosedur pemeriksaan rapid test IgG/IgM
(Syarif & Ayuningsih, 2020)

f. Pemeriksaan TCM (Tes Cepat Molekuler)

Salah satu teknik deteksi molekuler berbasis PCR *real-time* bersarang untuk mendiagnosis tuberkulosis adalah uji Xpert MTB/RIF TCM. Sekitar 81 bp dari wilayah inti gen rpoB kompleks Mycobacterium tuberculosis dapat diamplifikasi oleh primer PCR yang digunakan. Probe dirancang untuk membedakan antara mutasi resisten rifampisin di wilayah inti dan sekuens tipe liar. Perangkat GeneXpert 6-Warna dan 10-Warna dapat digunakan untuk pengujian ini, yang menggabungkan deteksi sekuens target, amplifikasi asam nukleat, dan pemurnian spesimen dalam sistem otomatis. Sistem ini terdiri dari komputer, perangkat lunak, dan instrumen GeneXpert®. Setiap pengujian memiliki cartridge sekali pakai dan dirancang untuk mengurangi kemungkinan kontaminasi silang. Selain itu, kartrid Xpert MTB/RIF dilengkapi dengan *Probe Check Control* (PCC) dan Sample *Processing Control* (SPC). SPC berfungsi sebagai kontrol proses yang adekuat terhadap bakteri target untuk memonitor keberadaan penghambat reaksi PCR, sedangkan PCC berfungsi untuk memastikan proses rehidrasi reagen, pengisian tabung

PCR pada *kartrid*, integritas *probe*, dan *stabilitas dye* (Wiratma et al., 2023).

Tes TCM dapat mengidentifikasi gen resistensi rifampisin (rpoB) dan *Mycobacterium tuberculosis* dalam dahak dalam waktu sekitar dua jam. Meskipun demikian, prosedur konvensional tetap menjadi standar emas untuk memverifikasi hasil tes kerentanan obat TB. Untuk menegakkan diagnosis tuberkulosis yang konklusif, terutama pada pasien dengan hasil mikroskopik apusan BTA negatif, dan untuk memastikan resistensi terhadap obat TB selain *rifampicin*, TCM tidak dapat menggantikan metode kultur dan tes kerentanan tradisional. Jika dahak tidak dapat dikeluarkan secara spontan, prosedur invasif seperti torakoskopi, bronkoskopi, atau induksi dahak dapat dilakukan. Semua individu dengan tuberkulosis yang terdiagnosis secara klinis atau terbukti secara bakteriologis juga harus menjalani tes HIV dan gula darah. Sesuai petunjuk, tes tambahan akan dilakukan, termasuk tes fungsi hati dan ginjal. Adapun mekanisme proses pemeriksaan diagnosa terduga tuberkulosis pada fasyankes (Fasilitas Pelayanan Kesehatan) yang memiliki alat tes cepat molekuler (TCM) yaitu sebagai berikut (Lendra et al., 2021):

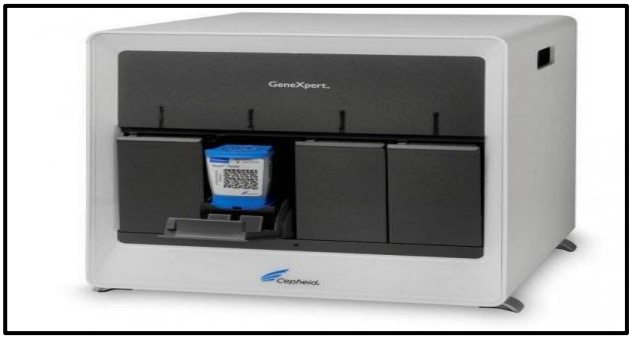
1) Fasyankes yang mempunyai akses pemeriksaan TCM, penegakan diagnosis tuberkulosis pada terduga tuberkulosis dilakukan dengan pemeriksaan TCM. Apabila pada kondisi dimana pemeriksaan TCM tidak memungkinkan (misalnya alat TCM melampaui kapasitas

pemeriksaan, alat TCM mengalami kerusakan, dll.), penegakan diagnosis tuberkulosis dilakukan dengan pemeriksaan mikroskopik

2) Jika terduga tuberkulosis adalah kelompok terduga tuberkulosis RO dan terduga tuberkulosis dengan HIV positif, harus tetap diupayakan untuk dilakukan penegakan diagnosis tuberkulosis dengan TCM tuberkulosis, dengan cara melakukan rujukan ke layanan tes cepat molekuler terdekat, baik dengan cara rujukan pasien atau rujukan contoh uji.
3) Jumlah contoh uji dahak yang diperlukan untuk pemeriksaan TCM sebanyak dua (2) dengan kualitas yang bagus. Satu contoh uji untuk diperiksa TCM, satu contoh uji untuk disimpan sementara dan akan diperiksa jika diperlukan (misalnya pada hasil indeterminate, pada hasil Rif Resisten pada terduga tuberkulosis yang bukan kriteria terduga tuberkulosis RO, pada hasil Rif Resisten untuk selanjutnya dahak dikirim ke Laboratorium LPA untuk pemeriksaan uji kepekaan lini-2 dengan metode cepat.
4) Pasien dengan hasil M.tb resisten rifampisin tetapi bukan berasal dari kriteria terduga TB-RO harus dilakukan pemeriksaan tes cepat molekuler (TCM) ulang. Jika terdapat perbedaan hasil, maka hasil pemeriksaan TCM yang terakhir yang menjadi acuan tindakan selanjutnya.

Pendekatan pemeriksaan TCM memiliki kelebihan dan kekurangan. Salah satu keunggulan TCM adalah identifikasi *Mycobacterium*

tuberculosis yang cepat dan resistensi obat. Kelemahan lainnya adalah ketidakmampuan TCM untuk mengidentifikasi sampel dahak yang mengandung darah dan sisa makanan. Hal ini disebabkan oleh tingginya kadar protein dalam darah dan sisa makanan, yang menghambat kemampuan DNA untuk terdegradasi, sehingga menyebabkan kesalahan sampel atau bahkan tidak ada hasil. Selain itu, pencampuran reagen yang tidak tepat dapat menghasilkan hasil yang tidak akurat (Syarif & Ayuningsih, 2020)



Gambar 2.9 Prosedur pemeriksaan TB dengan alat GeneXpert®
(Syarif & Ayuningsih, 2020)

7. Pengobatan tuberkulosis

Pasien tuberkulosis membutuhkan pengobatan yang cukup panjang, antara enam hingga sembilan bulan. Obat antituberkulosis (OTD), yang terbagi dalam beberapa kategori, adalah obat-obatan yang diberikan kepada pasien tuberkulosis. *Etambutol (E), Streptomisin (S), Pirazinamid (Z), Rifampisin (R), dan Isoniazid (H)* merupakan pengobatan *OAT lini pertama (Fortuna et al.*, 2022).

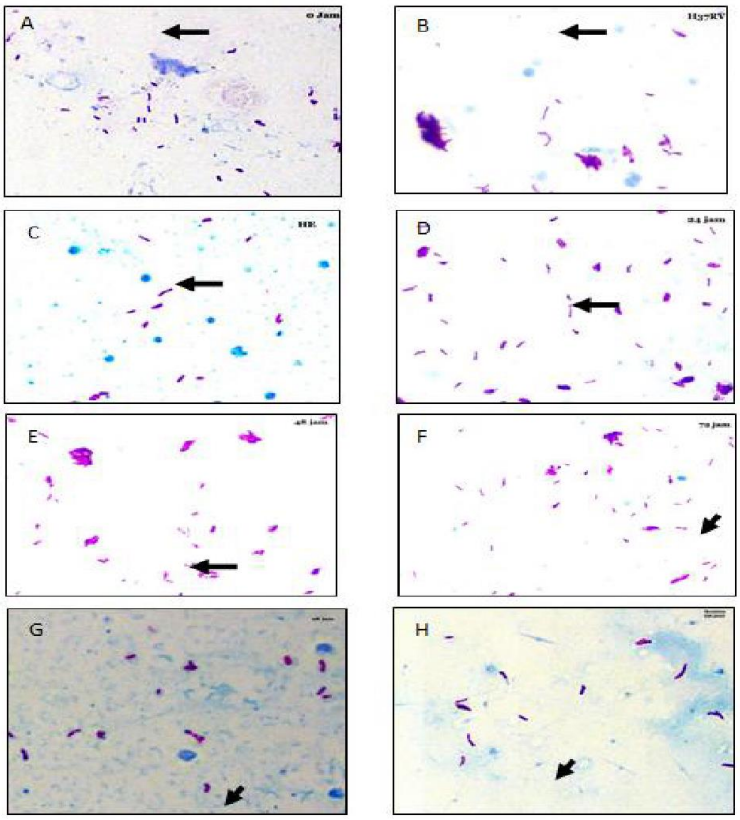
B. Tinjauan umum *Mycobacterium tuberculosis* (MTB)

1. Definisi *Mycobacterium tuberculosis*

Mycobacterium TB gram positif adalah bakteri aerob obligat, yang berarti membutuhkan oksigen bebas untuk berkembang. Bakteri ini tumbuh lambat antara dua hingga enam puluh hari pada suhu 37°C, tidak motil, tahan asam, dan tidak menghasilkan endospora maupun kapsul. Genus bakteri ini dibedakan oleh dinding selnya yang kaya lipid dan lapisan peptidoglikan yang mengandung asam mikolat. Hanya dinding sel bakteri dari genus Mycobacterium yang mengandung asam mikolat ini (Tamunu *et al.*, 2022).

2. Morfologi *Mycobacterium tuberculosis*

M. tuberculosis, anggota genus *Mycobacterium*, dicirikan oleh pertumbuhannya yang tidak motil, tidak adanya pembentukan spora, sel berbentuk batang lurus yang panjangnya 2-4 um dan lebarnya 0,2-0,5um, bentuk dinding sel yang mirip dengan bakteri gram positif tetapi memiliki lapisan lipid yang tebal, dan pertumbuhan pleomorfik dalam media cair yang dapat berbentuk sel berbentuk batang tunggal atau filamen bercabang multiseluler dengan waktu generasi lebih dari 24 jam (Widodo, Purlinda, & Ahmad, 2022).



Gambar 2.1. Morfologi *M. tuberculosis* pewarnaan Ziehl Neelsen
Sumber (Lendra et al., 2021)

Bakteri tahan asam dapat dibedakan dari bakteri tidak tahan asam menggunakan metode pewarnaan Ziehl-Neelsen, suatu metode pewarnaan diferensial yang menggunakan beberapa pewarna (Anam & Rahmawati, 2022). Fuksin pada konsentrasi 0,3% akan menurunkan sensitivitas ketika digunakan dalam pewarnaan M. tuberculosis, tetapi fuksin pada konsentrasi lebih tinggi dari 0,3% memiliki sensitivitas yang sama. Morfologi koloni bakteri patogen *M. tuberculosis* yang merupakan agen penyebab tuberkulosis (TB) virulensi berkorelasi dengan filamen multiseluler dan bercabang (Widodo *et al.*, 2022).

Genom Mycobacterium TB memiliki 4.009 gen dan 4,41 Megabasa (Mb) pasangan basa. Banyaknya gen yang terlibat dalam lipogenesis dan lipolisis membuat genom M. tuberculosis unik. Gen-gen ini diyakini berkaitan dengan produksi dan pemeliharaan sel bakteri (Widodo *et al*., 2022).

3. Taksonomi *Mycobacterium tuberculosis*

Adapun taksonomi dari *Mycobacterium tuberculosis* sebagai berikut:

Kingdom : *Bacteria*

Filum : *Actinobacteria*

Ordo : *Actinomycetales*

Famili : *Mycobacteriaceae*

Genus : *Mycobacterium*

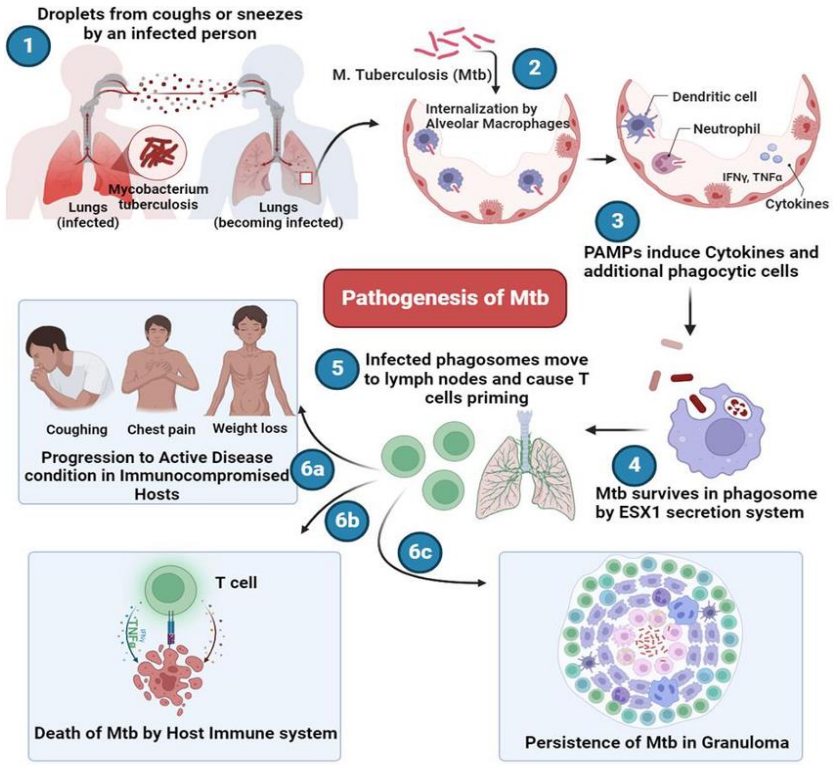
Spesies : *Mycobacterium tuberculosis* (Gelolodo et al., 2023)

4. Patogenesis *Mycobacterium tuberculosis*

Sistem imun inang berkaitan erat dengan perkembangan tuberkulosis. Sebagai respons terhadap invasi patogen TB, sebagian besar inang akan bereaksi secara tepat, mencegah infeksi dan menghambat pertumbuhan bakteri (Perhimpunan Dokter Paru Indonesia, 2021).

Tuberkulosis yang ditularkan melalui udara adalah penyakit. Penularan terjadi melalui partikel di udara yang dikenal sebagai droplet nuklei, yang ukurannya berkisar antara 1 hingga 5 mikron. *Droplet nuclei* memiliki sifat aerodinamis yang memungkinkannya masuk ke dalam saluran napas melalui inspirasi hingga mencapai bronkiolus respiratorius dan alveolus.

Sistem imun non-spesifik yang diperantarai oleh makrofag akan segera melakukan fagositosis dan mencerna kuman TB yang mengendap di saluran pernafasan jika inti droplet yang terhirup hanya sedikit (Perhimpunan Dokter Paru Indonesia, 2021).



Gambar 2.2. Patogenesis TB
(Sumber : Sari *et al.*, 2022)

Inhalasi merupakan cara umum bagi kuman untuk masuk ke dalam tubuh melalui sistem pencernaan dan pernapasan. Kuman-kuman ini menyusup dan berkumpul di paru-paru orang dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah. Mereka berkembang biak dan menyebar melalui kelenjar getah bening atau arteri. Meskipun infeksi TB dapat memengaruhi hampir semua organ, infeksi ini paling sering menyerang paru-paru (Sari, Sarifuddin, & Setyawati, 2022).

Granuloma terbentuk ketika *M. tuberculosis* berinteraksi dengan sistem imun pada fase awal infeksi. Makrofag mengelilingi kelompok basil yang mati dan aktif yang membentuk granuloma. Granuloma berkembang menjadi nekrotik, seperti keju, dan berubah menjadi massa jaringan fibrosa, yang bagian tengahnya dikenal sebagai TB *ghon*. Bakteri menjadi dorman karena lapisan ini mengalami stratifikasi dan akhirnya membentuk kolagen (Tamunu *et al.*, 2022).

5. Diagnosis *Mycobacterium Tuberculosis*

1. Pewarnaan BTA *Ziehl Neelsen* (ZN)

   Pewarnaan BTA dengan memanfaatkan metode *Ziehl Neelsen* merupakan suatu pilihan penggunaan di laboratorium dalam menegakkan diagnosis awal TB atau pengamatan pengobatan TB paru. Metode *Ziehl Neelsen* adalah metode yang disarankan oleh *World Health Organization* (WHO). Prinsip pemeriksaan yaitu *Mycobacterium tuberculosis* mempunyai sifat tahan terhadap penghilangan warna (dekolorisasi) dikarenakan terdapat lapisan asam mikolat pada dinding sel, sehingga disebut bakteri tahan asam (BTA). Sampel yang digunakan adalah sputum (Romi, 2020). Sputum yang baik digunakan yaitu purulen atau berwarna kuning kehijauan (Lendra et al., 2021). Pemeriksaan mikroskopis merupakan cara termudah, tercepat dan termurah (Febriani et al., 2022)

2. Kultur (Biakan)

   Pemeriksaan kultur dalam hal ini sebagai penumbuhan dan

pengidentifikasian bakteri *Mycobacterium tuberculosis* pada media padat *Lowenstein Jensen* (LJ) dan pada media cair *Mycobacteria Growth Indicator Tube* (MGIT). Nilai sensitivitas dan spesifisitas pemeriksaan kultur cukup tinggi yaitu 89,9% dan 100%. Kedua metode ini memiliki kelebihan dan kekurangan (Kemenkes, 2020).

Untuk penelitian kerentanan, isolasi, dan kultur obat, disarankan menggunakan media *Lowenstein Jensen* (LJ), yang mengandung telur dan mengandung elektrolit serta *malachite green*. Koloni mikroskopis *Mycobacterium tuberculosis* terbentuk pada media LJ dari minggu ke-2 hingga minggu ke-6 dan dinyatakan negatif setelah 8 minggu kultur (Munawaroh, Hidayati, & Utami, 2015). Koloni yang tumbuh pada media LJ membutuhkan waktu tiga hingga delapan minggu untuk mengembangkan permukaan berwarna krem, putih kekuningan, tepi rapuh, kering, dan bentuk tidak rata atau menyerupai kembang kol. Biaya media LJ yang rendah merupakan keuntungan, tetapi kekurangannya adalah waktu yang dibutuhkan untuk membuatnya cukup lama.

Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) adalah metode kultur pada media cair. Metode MGIT memiliki prinsip yaitu sampel (setelah proses dekontaminasi - konsentrasi sampel sputum maupun rektal serta konsentrasi/sentrifugasi sampel cairan pleura dan CSF) dikultur kedalam tabung yang berisi media cair *Middlebrook* 7H9 dan *fluoresens* yang tertanam pada suatu sensor silikon. Senyawa yang

berfluoresensi tersebut sensitif karena terdapat oksigen yang terlarut dengan *broth*. Umumnya sejumlah besar oksigen akan terlarut dan memadamkan emisi dari senyawa, sehingga hanya sedikit senyawa *berfluoresensi* yang terdeteksi. Pertumbuhan mikobakteria dapat dideteksi secara visual dengan sinar ultraviolet karena terdapat kekeruhan tidak homogen atau butiran-butiran kecil atau lempengan yang terlihat pada media kultur. MGIT mempunyai kelebihan yaitu hasil positif jika waktu penanamannya sekitar 4-7 hari. Adapun kekurangan pemeriksaan kultur yaitu membutuhkan waktu yang lama.

3. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Analisis mikroskopis, kultur bakteri, dan Reaksi Berantai Polimerase (PCR) dapat digunakan untuk menemukan *Mycobacterium tuberculosis* dalam dahak. Bagian penting dari program pengendalian TB adalah pemeriksaan mikroskopis dahak, yang menggunakan tiga spesimen dahak pagi (SPS) yang dipilih secara acak untuk menegakkan diagnosis, menilai pasien, dan memulai pengobatan. Tes yang paling sederhana, paling terjangkau, paling efektif, dan paling akurat adalah pemeriksaan mikroskopis dahak, yang dapat dilakukan di laboratorium mana pun.

Sensitivitas PCR untuk pengujian TB sangat tinggi. PCR adalah teknik untuk mengamplifikasi DNA secara in vitro, dalam hal ini DNA Mycobacterium tuberculosis. Proses ini memerlukan DNA cetakan (*template*) untai ganda yang mengandung DNA target, enzim DNA *polimerase*, *nukleotida trifosfat*, dan sepasang primer

C. Tinjauan Umum Gen *eskA*

1. Definisi Dan Peran Gen *esxA*

Gen ***esxA*** adalah pengatur utama sistem sekresi tipe III (*Type III Secretion System/T3SS*), yang merupakan sistem penting dalam patogenesis bakteri ini. *esxA* adalah anggota dari keluarga protein regulasi transkripsi *AraC*. Protein *esxA* mengontrol ekspresi gen-gen T3SS melalui pengikatan ke motif promoter spesifik ditemukan sekitar 45 bp di hulu situs awal transkripsi. T3SS memainkan peran kunci dalam menghindari fagositosis dan menyebabkan apoptosis makrofag selama infeksi akut pada inang (Montelongo-Martínez *et al*., 2024).

Gen terkait sistem sekresi seperti *esxA* (*ESAT-6 secretion system*) dalam patogenesis *M. tuberculosis* yang dikendalikan oleh gen-gen seperti *EsxA*, mengatur pelepasan protein seperti *ESAT-6*, yang memodulasi respons imun inang untuk mendukung kelangsungan hidup bakteri di dalam makrofag. Sistem ini memungkinkan *M. tuberculosis* menghindari deteksi oleh sistem kekebalan tubuh dan berkontribusi pada inflamasi kronis yang merusak jaringan paru-paru *(Shi et al.,* 2023).

Selain itu, protein-protein yang berhubungan dengan *ExsA* telah dikaitkan dengan interaksi spesifik *M. tuberculosis*, termasuk keterlibatan dalam pengaturan RNase atau pengenalan RNA bakteri, seperti yang ditemukan dalam penelitian terbaru mengenai aktivitas kompleks crRNA *ribonucleoprotein* (crRNP) pada *M. tuberculosis* (Shi *et al*., 2023).

2. Mekanisme Patogenesis yang melibatkan *esxA*

Protein yang dihasilkan oleh gen *esxA*, CFP 10, berkontribusi pada kemampuan *M. tuberculosis* untuk menghindari respon imun. Protein ini bekerja dengan membentuk kompleks dengan protein *ExsB* (CFP-11), yang membantu proses transpor protein virulensi ke dalam sel host. *ExsA* memainkan peran kunci dalam penghindaran fagositosis yang dapat memodulasi reaksi inflamasi untuk mendukung kelangsungan hidup bakteri di dalam makrofag (de Oliveira et al., 2023).

Agar spesies *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC) menjadi sepenuhnya *virulen*, protein ESAT-6 diperlukan. Bagian yang dikenal sebagai *Region of Difference* (RD1) mengandung gen yang mengkode ESAT-6. Gen EsxA diperkirakan suatu hari nanti dapat digunakan sebagai target diagnosis tuberkulosis (Perhimpunan Dokter Paru Indonesia, 2021).

E. Tinjauan Umum PCR

1. Definisi *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Ahli biokimia Kary Mullis menciptakan Reaksi Berantai *Polimerase* (PCR) pada tahun 1984. Urutan nukleotida tertentu dapat dikalikan secara eksponensial hingga kelipatan ribuan hingga jutaan salinan secara *in vitro* menggunakan reaksi berantai polimerase (PCR), sebuah teknik enzim yang digunakan dalam biologi molekuler. Teknik ini awalnya terbatas pada amplifikasi DNA. Selanjutnya, teknik ini diciptakan untuk mengukur dan mengamplifikasi molekul mRNA (Feranisa, 2016).

2. Komponen-komponen PCR

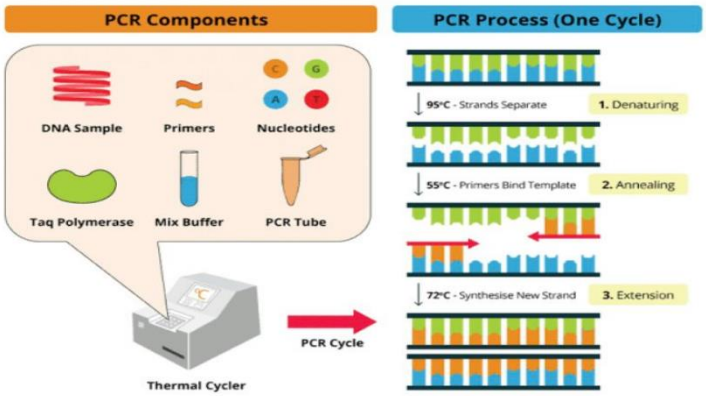
DNA templat, oligonukleotida, primer, *buffer* PCR, Dntp, enzim termostabil, tag DNA polimerase, dan kofaktor seperti magnesium, semuanya diperlukan untuk reaksi PCR. Untai DNA target direplikasi secara teratur oleh campuran ini, dengan suhu memainkan peran utama dalam menentukan laju reaksi dan spesifisitas (Siallagan et al., 2022).



Gambar 2.3 Mesin PCR
Sumber : (Siallagan et al., 2022).

3. Tahapan PCR

Pra-denaturasi DNA cetakan, denaturasi DNA cetakan, penempelan primer ke cetakan, pemanjangan primer, dan pasca-pemanjangan merupakan langkah-langkah yang menyusun proses PCR. Tahap (2) sampai dengan (4) merupakan tahapan berulang (siklus), dimana pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah DNA (Siallagan et al., 2022).



Gambar 2.4. Tahapan PCR
Sumber : (Fauziah et al., 2020)

Langkah kerja PCR melewati 3 tahap berikut:

1) Panas menyebabkan untaian DNA terbagi menjadi DNA untai tunggal selama proses denaturasi (96°C).
2) Penempelan dan penempelan (55–65°C) Selama tahap penempelan ini, suhu penempelan primer akan mengikat bagian komplementer dari urutan DNA untai tunggal.
3) Taq *polimerase* memanjang untuk membuat untaian DNA baru pada suhu 72°C, suhu yang dikenal sebagai perpanjangan/pemanjangan.

4. Kelebihan dan kekurangan PCR

Adapun kelebihan dan kekurangan PCR yaitu kelebihan dari metode *Polymerase Chain Reaction* antara lain adalah dapat mendeteksi keberadaan mikroorganisme dalam tubuh secara spesifik, dapat mendeteksi dalam sampel yang berjumlah sedikit, dapat membedakan spesies parasit tunggal, dan primer yang digunakan relatif lebih sederhana. Sedangkan kekurangan dari metode tersebut antara lain adalah proses harus diawali dengan preparasi sampel yang rumit, reagen mahal, hasil tidak dapat dilihat secara langsung,

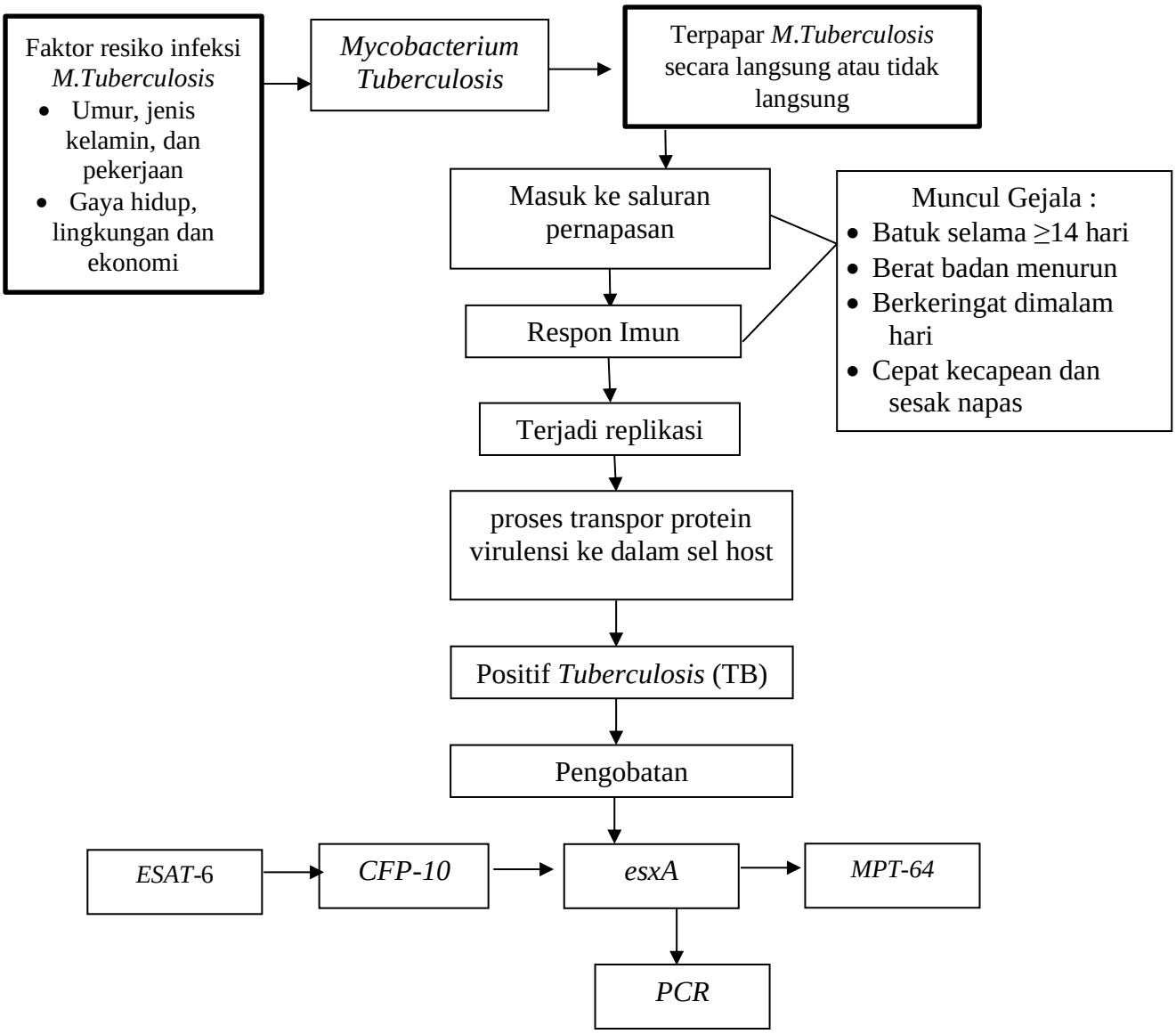
dan pemeriksaan tidak dapat membedakan mikroorganisme (Setia, Puspawati, & Rukmana, 2020).

5. Elektroforesis

Ide dasar dibalik elektroforesis DNA adalah bahwa molekul bermuatan positif (kation) akan tertarik ke kutub negatif (katoda), sedangkan molekul bermuatan negatif (anion) akan tertarik ke kutub positif (anoda) (Fauziah et al., 2020).

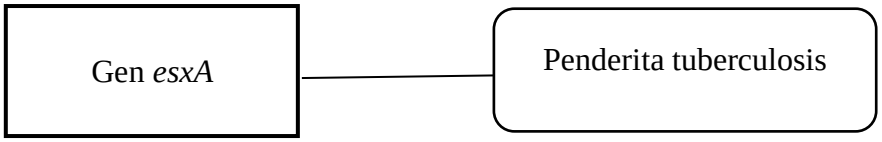
Medan listrik yang dihasilkan oleh elektroda digunakan dalam proses pemisahan elektroforesis untuk membentuk ikatan antara muatan dalam bentuk kation dan anion. Media pemisah yang digunakan untuk elektroforesis adalah fase diam, seperti gel agarosa yang dicampur dengan larutan penyangga, yang menjaga keasaman sampel selama proses pemisahan (Siallagan et al., 2022).

F. Kerangka Teori



Gambar 2.5 Kerangka teori

F. Kerangka Konsep



Ket:

Variabel independen

Variabel dependen

G. Definisi Operasional

1. Isolat MTB adalah kultur Mycobacterium tuberculosis yang berhasil diperoleh secara murni dari sampel dahak melalui proses kultur pada media selektif dan telah terkonfirmasi sebagai *Mycobacterium tuberculosis complex (MTBC)* melalui molekuler.
2. Gen *esxA*: Gen *esxA* merupakan gen virulensi yang poten dan dikenal juga sebagai potensi gen yang terkonservasi sebagai target untuk mendiagnosis kompleks *Mycobacterium tuberculosis (MTBC)* khususnya *Mycobacterium tuberculosis.*
3. PCR: Reaksi berantai polimerase, terkadang dikenal sebagai PCR, adalah tes yang digunakan untuk mengetahui keberadaan bakteri atau virus. Tes PCR merupakan metode yang banyak digunakan untuk mendiagnosis sejumlah penyakit.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan jenis penelitian kualitatif bersifat deskriptif yaitu dengan melakukan uji laboratorium untuk mendeteksi Deteksi Gen *esxA* Pada Suspek Penderita *Tuberculosis* Dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi penelitian

   Lokasi pengambilan sampel dan tempat penelitian dilaksanakan di *HUMRC* (*Hasanuddin University Medical Research Center*).

2. Waktu penelitian

   Penelitian ini akan dilakukan pada bulan Juli -Agustus 2025

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi Penelitian

   Populasi dalam penelitian ini adalah semua isolat *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) yang ada di HUMRC (*Hasanuddin University Medical Research Center*) tahun 2024

2. Sampel Penelitian

   Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 15 isolat *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) di HUMRC (*Hasanuddin University Medical Research Center*)

D. Instrumen Penelitian

1. Alat

Adapun alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *coolbox*, *Timer, Biological safety cabinet (BSC), Freezer,* Rak Tabung, Tabung *Eppendorf, Laminar Air Flor* (ESCO), Inkubator (*Titramax*-1000) *mikropipet Bio-rad* (100-1000 µL, 1-20 µL, 0,5-10 µL), Vortex (Profuge 6k), *Collection tube, Thermal cycler PCR (BIO-RAD C-1000 Touch), Sentrifuge mini (Biofuge pico), Neraca analitik (kem), Microware (Electrolux),* Tabung ukur 100 ml, *Chamber elektroforesis (Bio-Rad), Comb (Sisir Gel), Geldoc Transluminator (Bio-Rad), Cetakan gel, UV gel doc, dan waterbath.*

2. Bahan

Adapun bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu isolate *mycobacterium tuberculosis, filter Tip (1000* µL, 200 µL, 20 µL), kit ekstraksi, Gsync^{TM}DNA *Ekstraction* kit, Wash Buffer 1 (WI), Wash buffer 2 (W2), Ethanol absolute, phospat buffer salin (PBS), Enzim DNA *polymerase*, bubuk gel agarose *molecular grade, ethidium bromide* (EtBr), loading dye, larutan *buffer Tris Borate* EDTA (TBE), marker DNA, DNA ladder, filter tip, tabung mikrosentrifus 1,5, tabung *Eppendorf*, tabung *spin column*, cetakan hasil isolasi, dNTPs (*deoxynucleotide trifosfat*) sebagai sumber nukleotida, *Buffer* PCR (MgCl), *Nuclease free water* (NFW), *Enzim taq polymerase, marker,* dan, primer *esxA*

F:5'- GCATGACAGAGCAGCAGTGGAAT-3'

R:5'- GAGGAGAAGCCCGGTTGCCCTTTCGCT ATTCTACG-3'

(Montelongo-Martínez *et al*., 2024).

3. Prosedur Penelitian

a. Ekstraksi DNA

Metodologi kit DNA digunakan untuk mendapatkan sampel isolat Tb. Langkah pertama dalam proses ekstraksi DNA adalah lisis sel, yang melibatkan pemipetan 200 µl sampel ke dalam tabung mikrosentrifus steril 1,5 ml, penambahan 20 µl proteinase K, pengocokan selama 10 detik, dan inkubasi selama 5 menit pada suhu 60°C. Selanjutnya, 200 µl buffer GSB ditambahkan, dikocok, dan inkubasi dilanjutkan selama 2 menit pada suhu 60°C. Terakhir, 200 µl etanol absolut ditambahkan dan dikocok selama 10 detik. Langkah kedua adalah pengikatan DNA, yang melibatkan pemipetan sisa sampel ke dalam tabung baru setelah semua sampel dimasukkan ke dalam tabung kolom putar dan disentrifugasi selama satu menit pada kecepatan 14.000 rpm. Tabung pengumpul di dasar kolom putar kemudian dibuang. Pada langkah ketiga, yaitu pencucian, 400 µl buffer W1 ditambahkan ke dalam tabung, disentrifugasi selama 1 menit pada kecepatan 14.000 rpm, endapan dibuang, 600 µl *buffer* W1 ditambahkan lagi, disentrifugasi selama 30 detik pada kecepatan 14.000 rpm, cairan dibuang ke dalam tabung pengumpul, dan kemudian tabung pengumpul dibuang. Tabung eppendorf baru ditempatkan di dasar kolom putar, dan sisa sampel

dipipet keluar. Tahapan yang terakhir yaitu *elution*, pertama pipet *elution buffer* sebanyak 100 µl kemudian diamkan selama 3 menit lalu sentrifuge selama 30 detik dengan kecepatan 14.000 rpm. Hasil *ekstraksi* disimpan pada lemari es dengan suhu -4 ^{o}C untuk digunakan sebagai template PCR.

b. Amplifikasi PCR

Hasil ekstraksi DNA tersebut diperkuat dengan menggunakan campuran reaksi PCR yang meliputi: 100 µl Taq DNA Polymerase, 8 µl primer maju dan primer cadangan, masing-masing 44 µl air bebas *nuklease*, 5 detik pengocokan, pemipetan 10 µl masing-masing ke dalam tabung PCR, penambahan 5 µl cetakan DNA hasil ekstraksi masing-masing ke dalam tabung PCR, dan terakhir pemutaran. Selanjutnya dimasukkan tabung yang berisi sampel dan PCR mix kedalam alat PCR *Thermocycler*. Reaksi PCR memiliki 35 siklus yang terdiri dari *predenaturasi* 95 ^{o}C selama 2 menit yang diikuti oleh *denaturasi* 95 ^{o}C selama 15 detik, *annealing* 55 ^{o}C selama 30 detik dan tahap *ekstension* 72 ^{o}C selama 30 detik dan *post ekstension* pada suhu 72 ^{o}C selama 7 menit

Tabel 3.1. Perhitungan Mix PCR (deteksi gen *eskA*)

Komponen PCR	Volume /sampel	Volume /sampel
Enzim PCR	6,25 µl/sampel	x 18 = 112,5
Nuklease free water	2,75 µl/sampel	x 18 = 49,5
Primer F	0,5 µl/sampel	x 18 = 9
Primer R	0,5 µl/sampel	x 18 = 9

Sumber : Data Primer 2025

c. **Elektroforesis**

Hasil amplifikasi kemudian di elektroforesis disiapkan *gel agarose* 2% yang dibuat 1,5 gram *agarose* yang dicampur 100 ml TBE (*Tris Borate EDTA)* lalu Homogenkan dan setelah itu dipanaskan dengan *microwave* selama 3 menit dengan suhu 450 ^{o}C kemudian keluarkan dari microwave dan dipipet *Etidium Bromida* (EtBr) sebanyak 3 µl dan homogenkan lalu dituang ke dalam pencetak gel yang telah dipasangkan sisiran dan tunggu 1 jam hingga mengeras. Setelah memasukkan gel agarosa ke dalam ruang elektroforesis dengan larutan penyangga 0,5 TBE hingga tanda batas maksimum, pipet penanda tangga dengan 5 µl ke dalam sumur pertama, kontrol negatif dengan 5 µl ke dalam sumur kedua, dan setiap sampel DNA dengan 5 µl ke dalam sumur ketiga hingga sumur keempat belas.

Setelah itu tutup chamber dan atur arus listrik 400 *volt* selama 45 menit dengan kuat arus 100 mA. Lalu tekan tanda "*RUN*" selanjutnya setelah proses elektroforesis selesai gel diangkat lalu dibaca dengan alat visualisasi BIO-Rad Gel Doc UV Transilluminator.

E. Teknik Analisis Data

Analisa hasil deteksi gen *ExsA* disajikan secara deskriptif dalam bentuk tabel.

F. Etika penelitian

1. Peneliti menghormati harkat dan martabat manusia *(respect for human dignity)*

   Para akademisi dapat mempertimbangkan hak subjek untuk mendapatkan informasi yang jelas tentang prosedur penelitian, kebebasan memilih, dan tidak adanya paksaan untuk terlibat dalam kegiatan penelitian (otonomi). Pembuatan formulir persetujuan penelitian yang diinformasikan kepada partisipan oleh peneliti merupakan salah satu kegiatan yang berkaitan dengan gagasan menghormati martabat manusia.

2. Menghormati privasi dan kerahasiaan subjek penelitian *(respect for privacy and confidentiality)*

   Agar peneliti dapat memperhatikan hak-hak dasar individu-individu ini, premis penelitian dapat mengarah pada pengungkapan informasi pribadi.

3. Keadilan dan inklusivitas *(respect for justice and inclusiveness)*

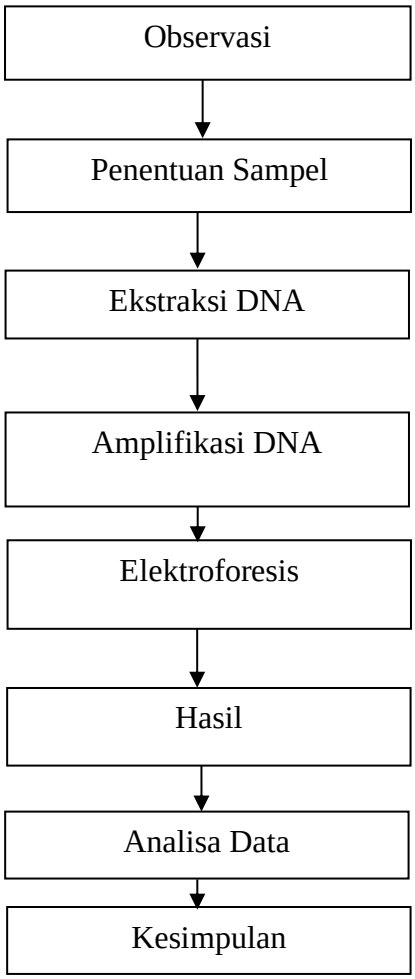
   Selain mempertimbangkan aspek-aspek seperti ketepatan, kelengkapan, kedekatan, kesejahteraan psikologis, dan sentimen keagamaan subjek penelitian, penelitian ini akan dilakukan dengan integritas, kehati-hatian, profesionalisme, dan kemanusiaan. Kebijakan penelitian akan menekankan pentingnya distribusi imbalan dan beban

secara adil, dengan mempertimbangkan kebutuhan, kapasitas, kontribusi, dan kehendak bebas komunitas. Sebelum, selama, dan setelah keterlibatan subjek dalam penelitian, peneliti akan mempertimbangkan keadilan gender dan hak mereka atas perlakuan yang setara.

4. Memperhitungkan manfaat dan kerugian yang ditimbulkan *(balancing harms and benefits)*

   Untuk mendapatkan hasil yang semaksimal mungkin bermanfaat bagi subjek penelitian dan dapat diekstrapolasikan ke populasi yang lebih luas, para peneliti mengikuti protokol penelitian. Nonmaleficence adalah pengurangan potensi efek negatif pada subjek.

I. Alur Kerja



Gambar 3.1 Bagan Alur Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Deteksi Gen *exsA* Pada Suspek Penderita *Tuberculosis* Dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang akan menghasilkan produk DNA dengan ukuran fragmen internal 339 bp yang dilakukan dengan tujuan Untuk mengetahui apakah terdapat gen *exsA* di HUMRC (*Hasanuddin University Medical Research Center*). Adapun karakteristik responden dalam penelitian dijelaskan sebagai berikut:

1. Karakteristik responden penelitian

Tabel 4.1 karakteristik responden berdasarkan usia

Kategori	**Frekuensi**	**Presentase (%)**
25-35 tahun	5	29%
36-46 tahun	4	20%
47-57 tahun	6	51%
Total	15	100%
Jenis Kelamin	**Frekuensi**	**Persentase%**
Laki-Laki	7	40 %
Perempuan	8	60%
Jumlah	15	100%
Lama pengobatan	**Frekuensi**	**Persentase**
1-2 bulan	7	50
3-4 bulan	5	30
5-6 bulan	3	20
Total	15	100

Sumber : Data Primer 2025

Berdasarkan tabel 4.1 yang telah dikategorikan usia berdasarkan kelompoknya, maka dapat disimpulkan bahwa di dalam penelitian ini yang berusia 25-35 tahun sebanyak 5 responden (29%), dan usia 36-46 tahun sebanyak 4 responden dengan persentase 20%. Dan paling banyak yang ikut serta dalam penelitian ini yaitu kategori usia 47-57 tahun

dengan 6 responden (51%). Sedangkan berdasarkan jenis kelamin diketahui terdapat 7 responden laki-laki persentase 40%, sedangkan responden perempuan berjumlah 8 orang dengan persentase 60%. frekuensi Riwayat gejala yang ikut dalam penelitian diketahui bahwa sebanyak 12 responden (80%) yang masih mengalami gejala seperti batuk-batuk, penurunan berat badan, sering berkeringat dan selalu sesak nafas. Berdasarkan lama pengobatan responden diketahui bahwa masa pengobatan paling banyak pada 1-2 bulan sebanyak 7 responden (50%).

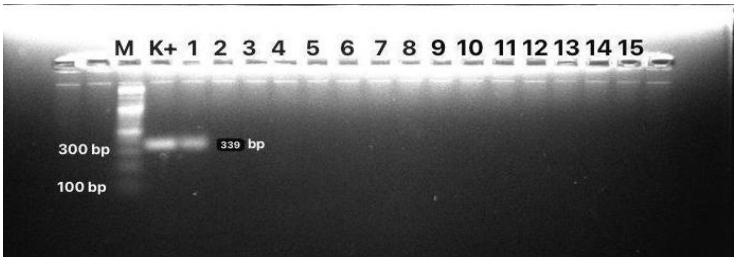
2. Hasil deteksi Gen *esxA* Dengan *Polymerase Chain Reaction*

Berdasarkan karakteristik responden didapatkan usia rata-rata 47-57 tahun dengan jenis kelamin rata-rata perempuan dari 15 sampel sputum. Hasil penelitian ini menunjukan bahwa responden yang terinfeksi *M. Tuberculosis* ditemukan sampel positif yang terdeteksi Deteksi Gen *esxA* 15 sampel sputum tersebut. Hasil visualisasi elektroforesis dan amplifikasi DNA dengan teknik PCR terhadap sputum responden. untuk mendapatkan gambaran dapat dilihat pada tabel 4.3 berikut:

Tabel 4.2 deteksi *Aspergillus Fumigatus* Menggunakan Metode PCR.

No	Kode sampel	Hasil	Keterangan
N	Marker	Penanda	Penanda
1	1	Terbentuknya band DNA	339 bp

Sumber: Data Primer 2025



Gambar 4.1 Hasil produk PCR visualisasi elektroforesis pada Gel Doc
Sumber : Hasil *Elektroforesis* 2025

Keterangan:

1- 15 = Kode Sampel

Negatif = Tidak terdeteksi Gen *esxA*

Positif = Terdeteksi *esxA*

Berdasarkan pemeriksaan yang telah dilakukan dengan menggunakan metode PCR dan dilanjutkan ke elektroforesis dengan menggunakan gel agarose maka dapat diketahui sampel responden kode 001 positif ditandai dengan adanya pembentukan band DNA dengan panjang 339 bp dan 14 sampel lainnya diketahui negatif dengan ditandai dengan tidak adanya pembentukan *band* DNA pada alat yang digunakan dalam penelitian yang disebut dengan *gel doc*.

B. Pembahasan

Pengambilan sampel pada penelitian ini HUMRC (*Hasanuddin University Medical Research Center*). Dahak dari pasien tuberkulosis paru digunakan sebagai sampel penelitian karena dahak merupakan cairan yang diproduksi oleh sistem pernapasan manusia dan dapat digunakan sebagai bahan uji untuk mendiagnosis gen esxA pada pasien TB paru sebagai infeksi primer atau sekunder, di mana perkembangan infeksi sekunder di paru-paru disebabkan oleh anomali atau kerusakan pada jaringan paru-paru. Sampel ditampung ke dalam pot steril kemudian dimasukkan ke dalam *cool box*, sebelum terpenuhi maka sampel disimpan pada freezer untuk mencegah rusaknya sampel. setelah terpenuhi, sampel dibawa ke laboratorium Mikrobiologi klinik *Hasanuddin University Medical-Research Center* (HUM-RC) Fakultas kedokteran Universitas Hasanuddin.

Kemudian sampel yang sudah terkumpul dilanjutkan ke tahapan ekstraksi DNA. Ekstraksi DNA merupakan tahapan penting untuk mendeteksi gen esxA dari spesimen klinis dengan memperoleh molekul DNA murni dengan kualitas yang baik serta cukup diamplifikasi ke *Polymerase Chain Reaction* (PCR) kemudian di elektroforesis gel.

Adapun tahapan yang pertama dilakukan adalah memindahkan sampel dari pot steril ke dalam tabung microcentrifuge yang telah diberi kode sampel sebanyak 200 ul menggunakan mikropipet, dan untuk sampel yang memiliki sukar untuk dipipet diencerkan terlebih dahulu dengan menambahkan *N-Acetyl L-cystein* kedalam pot sampel sesuai dengan banyaknya spesimen dalam pot steril (sampel) kemudian vorteks. Setelah itu, sampel diinkubasi pada waterbath dengan suhu 950 C selama 20 menit.

Selanjutnya dilakukan ekstraksi yang berfungsi untuk memisahkan asam nukleat baik DNA/RNA dari komponen lain pada sel inangnya dengan rangkaian proses penghancuran sel, penghilangan protein dan kemudian pada tahap terakhir pengendapan. Pada serangkaian proses ini digunakan beberapa buffer dan juga enzim untuk mendapatkan DNA murni. Adapun buffer yang digunakan yaitu *buffer lysis* atau GSB yang berfungsi dalam menghancurkan membran sel, kemudian buffer wash (W1 dan W2) yang berfungsi membersihkan komponen lainnya selain DNA murni di setiap perlakuan, Kemudian, komponen non-DNA tetap berada di dalam tanah karena etanol 100% mendorong presipitasi DNA. DNA juga dimurnikan menggunakan buffer elusi. Protein yang dapat menghambat proses amplifikasi dipecah oleh enzim proteinase K.

Selanjutnya, dibuat mix PCR yang akan digunakan dalam proses amplifikasi DNA *esxA*. Adapun komponen dari mix PCR yaitu Enzim DNA *polimerase* yang berfungsi dalam proses membuat copian strand DNA yang baru, kemudian primer forward dan reverse AFU yang berfungsi membatasi daerah yang akan diamplifikasi, kemudian ddH_2O sebagai larutan penyangga dan DNA hasil ekstraksi sebagai template. Kemudian dibuatlah kontrol positif dengan metode pooling dan juga kontrol negatif yang berfungsi sebagai acuan dalam menentukan hasil identifikasi.

Adapun metode PCR yang digunakan dengan tiga tahapan yaitu denaturasi yang berfungsi untuk memisahkan rantai nukleotida dari *double strand* menjadi *single strand*. Kemudian pada tahapan PCR yang kedua yaitu annealing proses ini merupakan tahap penempelan primer pada rantai tunggal DNA. Selanjutnya pada tahap terakhir yaitu ekstensi atau proses pemanjangan yang bertujuan untuk memanjangkan sekuens DNA target.

DNA yang diperkuat selanjutnya dikenakan elektroforesis, yang menggunakan kutub positif dan negatif elektroda untuk menarik fragmen DNA dalam matriks gel yang mengalirkan arus listrik untuk memilah fragmen berdasarkan ukuran. Setelah itu, hasil elektroforesis diamati pada Gel Doc.

Sejumlah variabel, termasuk cetakan DNA, primer, suhu *annealing*, pemilihan enzim polimerase, konsentrasi ion campuran reaksi, dan lainnya, mempengaruhi keberhasilan PCR. Suhu annealing perlu dipilih dengan cermat. Suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan *adhesi* primer yang sangat lemah, sehingga menghasilkan produk yang sangat sedikit. Di sisi lain, perlekatan

nonspesifik dapat terjadi pada suhu yang terlalu rendah, sehingga menghasilkan potongan-potongan yang tidak diinginkan.

Pemeriksaan menggunakan PCR mempunyai keunggulan, disamping hasil pemeriksaan yang dilakukan dapat diketahui dalam waktu relatif cepat, teknik ini juga memiliki sensitivitas yang tinggi sehingga meminimalisir kesalahan diagnosis pada saat pemeriksaan. Apabila biaya dari pemeriksaan ini dapat ditekan maka teknik ini kiranya dapat dipertimbangkan dalam membantu diagnosis terlebih pada kasus yang membutuhkan hasil *skrining* yang cepat.

Tuberkulosis paru, yang terjadi ketika sistem kekebalan tubuh terganggu, dapat disebabkan oleh virus *Mycobacterium tuberculosis*. Faktor risiko dalam ketiga komponen ini dapat dipelajari dari sudut pandang epidemiologi, yang memandang terjadinya penyakit sebagai hasil interaksi antara inang, agen, dan lingkungan. Dari sudut pandang inang, sistem kekebalan tubuh seseorang saat ini memiliki dampak yang signifikan terhadap kerentanan mereka terhadap penularan *Mycobacterium* TB.

Enam variabel risiko juga disebut sebagai faktor penentu, yang mengukur kemungkinan individu sehat jatuh sakit. Usia, jenis kelamin, ras, genetika, pekerjaan, status gizi, status imun, gaya hidup, dan karakteristik fisik merupakan contoh faktor host. Faktor lainnya meliputi faktor agen, yaitu komponen makhluk hidup atau kuman infeksius penyebab penyakit, dan faktor lingkungan, yang meliputi lingkungan fisik, biologis, dan sosial.

Pada penelitian ini sampel yang digunakan sebanyak 15 sampel, dimana ditemukan 1 yang positif (10%) dengan kode 001 yang ditandai terbentuknya pita pada DNA target 339 bp. di Indonesia kasus tuberkulosis masih cukup

tinggi, menurut organisasi kesehatan dunia (WHO) kasus tuberkulosis di Indonesia mencapai 1.020.000 (linda *et al.,* 2020). Tingginya angka pasien terkonfirmasi positif tuberkulosis di Indonesia juga menjadi salah satu penyebab *esxA* adalah protein yang disekresikan melalui ESX-1 *secretion system*, Di dalam makrofag pasien, ESX-A membantu bakteri melubangi membran fagosom, sehingga *M. tuberculosis* keluar ke sitosol dan menghindari degradasi oleh enzim lisosom. Setelah keluar ke sitosol, bakteri bisa berpindah ke sel lain, memperluas area infeksi di paru atau organ lain. ESX-A dapat merangsang pelepasan sitokin proinflamasi (misalnya TNF-α, IL-1β) sehingga *Respons* tubuh membantu mengendalikan infeksi, tetapi juga berkontribusi pada kerusakan jaringan paru yang terlihat pada pasien TB.

Berdasarkan tabel 4.1 yang telah dikategorikan usia berdasarkan kelompoknya, maka dapat disimpulkan bahwa di dalam penelitian ini yang berusia 25-35 tahun sebanyak 5 responden (29%), dan usia 36-46 tahun sebanyak 4 responden dengan persentase 20%. Dan paling banyak yang ikut serta dalam penelitian ini yaitu kategori usia 47-57 tahun dengan 6 responden (51%). Sedangkan berdasarkan jenis kelamin diketahui terdapat 7 responden laki-laki persentase 40%, sedangkan responden perempuan berjumlah 8 orang dengan persentase 60%. frekuensi Riwayat gejala yang ikut dalam penelitian diketahui bahwa sebanyak 12 responden (80%) yang masih mengalami gejala seperti batuk-batuk, penurunan berat badan, sering berkeringat dan selalu sesak nafas. Sedangkan hasil penelitian diketahui yang positif 1 responden (20,0%), dan 14 lainnya negatif gen esxA terhadap sampel *tuberculosis* (80,0%).

Tuberkulosis (TBC) melibatkan penggunaan obat anti-tuberkulosis (OAT) yang dikombinasikan selama beberapa bulan, dan jenis obat tertentu dapat menyebabkan efek samping. Beberapa obat yang umum digunakan dalam pengobatan TBC meliputi isoniazid, rifampicin, pyrazinamide, dan ethambutol. Meskipun jarang, ada laporan tentang resistensi terhadap obat TBC, termasuk resistensi terhadap gen *eskA*, yang dapat mempersulit pengobatan pada lini I dan lini II.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Dewi et al (2021) melakukan penelitian yang menargetkan gen *esxA* pada pasien MDR-TB lewat sputum. Mereka menemukan bahwa penggunaan *esxA* sebagai target PCR dapat meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas diagnosis TB, terutama pada kasus resisten obat dalam Studi komparatif genom pada isolat klinis menunjukkan adanya variasi genetik pada gen *esxA* dan *gene cluster* sekitarnya (*esx* family), termasuk kemungkinan gene conversion dan *epitope variation*. Temuan ini penting untuk pengembangan vaksin dan uji diagnostik berbasis antigen RD1 seperti ESAT-6.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang bisa ditarik dari hasil penelitian yang telah dilakukan yaitu sampel responden kode 001 positif ditandai dengan adanya pembentukan band DNA dengan panjang 339 bp dan 14 sampel lainnya diketahui negatif dengan ditandai dengan tidak adanya pembentukan band DNA pada alat yang digunakan dalam penelitian yang disebut dengan *gel doc*.

B. Saran

Diharapkan pada peneliti selanjutnya agar dapat mengembangkan kembali penelitian ini, dengan melakukan penelitian Pada pasien tuberkulosis, yang paling sering diteliti adalah hubungan antara ekspresi atau mutasi *esxA* dan gen-gen lain dalam sistem ESX seperti *esxB, esxH* (TB10.4), serta interaksi dengan faktor-faktor regulator seperti *espR* dan *PhoP/whiP 6.*

DAFTAR PUSTAKA

Abbas, A. (2022). Epidemiologi Kejadian Tuberkulosis-Diabetes Mellitus (TB-DM) di Kota Kediri. *Jurnal Ilmu Kesehatan Masyarakat*, *11*(03), 279–286. https://doi.org/10.33221/jikm.v11i03.1439

Ahmadi, A., Hidayat, M., & Muzaki, M. A. (2023). Pelaksanaan Discharge Planning Keluarga Penderita Tuberculosis Paru. *Indonesian Journal of Professional Nursing; Vol 4 No 1 (2023); 21 - 28 ; 2747-156X ; 2746-5799 ; 10.30587/Ijpn.V4i1*.

Aldina, S. N., Wahyuni, S., Indria, T., Khoiriyah, Z., & Ariesaka, K. M. (2025). Desain Primer Pcr Spesifik Secara In Silico Untuk Amplifikasi Gen Cox-1 (Cytochrome Oxidase Subunit I) Dna Mitokondria Pada Aedes aegypti, *18*(1), 23–32.

Anam, K., & Rahmawati, E. (2022). Pemeriksaan Mikroskopis BTA Menggunakan Metode Pewarnaan Ziehl- Neeslen di RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda. *Jurnal Teknologi Laboratorium Medik Borneo*, *2*(1), 54–61.

de Oliveira, H. V., Ferreira, J., Matta, A. C., & Oliveira, M. (2023). The Mycobacterium tuberculosis : A Silent Killer.

Dewi, D. N. S. S., Soedarsono, S., Kurniati, A., & Mertaniasih, N. M. (2022). The specifc DNA region of esxA gene for the target of PCR to determine Mycobacterium tuberculosis accurately. *Bali Medical Journal*, *6*(1), 150.

Diah Pramudianti, M. I., & Tahono, T. (2022). Korelasi Antara Hitung Trombosit Dengan Jumlah Cd4 Pasien Hiv/Aids. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, *17*(2), 102–106.

Dwi, M., Putra, A., Nyoman, N., Budayanti, S., & Mayura, I. P. B. (2024). Penerapan Teknik Polymerase Chain Reaction (PCR) dalam Mendeteksi Bakteri Patogen pada Sektor Peternakan dan Kesehatan Masyarakat, *11*(3), 1–12.

Fadhilah, N., Kurniawan, I., Budianto, A., & Kesehatan Universitas Muhammadiyah Pringsewu, F. (2024). index Factors Related To Knowledge Of Tuberculosis Prevention Therapy (Tpt) In Families With Pulmonary Tb Pencegahan Tuberkulosis (Tpt) Pada Keluarga Penderita Tb Paru, *2*(1), 62–71.

Fauziah, P. N., Romlah, S., & Khozinul Asrori, A. (2020). Deteksi Mycobacterium TUBERCULOSIS Dari Kultur Mgit Berdasarkan Gen KATG. *Journal OF Indonesian Medical Laboratory And Science (JoIMedLabS)*, *1*(1), 1–10. https://doi.org/10.53699/joimedlabs.v1i1.2

Febriani, A., Sijid, S. A., Hidayat, K. S., Muthiadin, C., & Zulkarnain, Z. (2022). Gambaran hasil pemeriksaan mikroskopik basil tahan asam pada penderita tuberkulosis paru di BBKPM Makassar. *Filogeni: Jurnal Mahasiswa Biologi*,

2(1), 21–26. https://doi.org/10.24252/filogeni.v2i1.28631

Feranisa, A. (2021). Komparasi Antara Polymerase Chain Reaction (Pcr) Dan Loop Mediated Isothermal Amplification (Lamp) Dalam Diagnosis Molekuler. *ODONTO : Dental Journal*, *3*(2), 145. https://doi.org/10.30659/odj.3.2.145-151

Fortuna, T. A., Rachmawati, H., Hasmono, D., & Karuniawati, H. (2022). Studi Penggunaan Obat Anti Tuberkulosis (OAT) Tahap Lanjutan pada Pasien Baru BTA Positif. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, *19*(1), 62–71.

Gelolodo, M. A., Pandarangga, P., Simarmata, Y. T. R. M. R., Utami, T., Tophianong, T. C., Datta, F. U., … Deta, H. U. (2023). Diagnosa Penyakit Hewan dengan Teknik Polymerase Chain Reaction di Lingkungan Universitas Nusa Cendana. *International Journal of Community Service Learning*, *7*(2), 160–167.

Giri Putra, L. A., Yonathan, C. J., Niedhatrata, N. I., Rizka Firdaus, M. H., & Yoewono, J. R. (2020). A review of the development of Polymerase Chain Reaction technique and its uses in Scientific field. *Stannum : Jurnal Sains Dan Terapan Kimia*, *2*(1), 14–30.

Hikmah, A. M., & Tarigan, W. M. (2022). Perbedaan Nilai Laju Endap Darah (Led) dengan Metode Westergren Manual dan Automatic Convergys Esr 10s di Puskesmas Pasar Minggu. *INSOLOGI: Jurnal Sains Dan Teknologi*, *1*(5), 669–675.

Kemenkes, P. (2020). *Temukan TB Obati Sampai Sembuh Penatalaksanaan Tuberkulosis Resisten Obat di Indonesia*.

Lendra, W., Putri, D. H., Erlinda, & Yuniarti, E. (2021). Hasil Pemeriksaan BTA Sputum Suspek TB Bulan Januari di UPTD Laboratorium Kesehatan Sumatera Barat. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, *1*(2), 918–924.

Miggiano, R., Rizzi, M., & Ferraris, D. M. (2020). Mycobacterium tuberculosis pathogenesis, infection prevention and treatment. *Pathogens*, *9*(5), 10–13.

Montelongo-Martínez, L. F., Díaz-Guerrero, M., Flores-Vega, V. R., Soto-Aceves, M. P., Rosales-Reyes, R., Quiroz-Morales, S. E., … Cocotl-Yañez, M. (2024). The quorum sensing regulator RhlR positively controls the expression of the type III secretion system in Pseudomonas aeruginosa PAO1. *PLoS ONE*, *19*(8 August), 1–23.

Munawaroh, A. L., Hidayati, D. Y. N., & Utami, Y. W. (2021). Comparative Study of Coco Blood Malachite Green Culture Media with Lowenstein Jensen (LJ) for Rapid Diagnostic, Specific, and Sensitive on Sputum of Tuberculosis Suspect Patient. *Majalah Kesehatan FKUB*, *2*(2), 79–91.

Nortajulu, B. (2022). Faktor - Faktor Yang Berhubungan Dengan Kesembuhan TB Paru. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*, *4*(1), 153–158.

Nugroho, K., Widyajayantie, D., Ishthifaiyyah, S. A., & Apriliani, E. (2021). Pemanfaatan Teknologi Droplet Digital PCR (ddPCR) dalam Kegiatan Analisis Molekuler Tanaman. *Jurnal Bios Logos*, *11*(1), 28.

Perhimpunan Dokter Paru Indonesia. (2021). *Tuberkulosis Pedoman Diagnosis dan Penatalaksanaan di Indonesia*. *Perhimpunan Dokter Paru Indonesia* (Vol. 001).

Programmer. (2022). *WHO: operational handbook on tuberculosis*. *Module 5: Management of tuberculosis in children and adolescents*.

Rizana Fajrunni'mah, N. D. F. (2022). Immunological and Hematological Status Profile in Tuberculosis-Human Immunodeficiency Virus Coinfected Patients, *32*(4), 1–15.

Romi, Y. (2020). Penambahan Carbol Fuchsin Dan Pemanasan Sputum Sebelum Dan Sesudah Pembuatan Sediaan. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*, *11*(1), 253–261.

Rorimpandey, N. G., Rambert, G. I., & Wowor, M. F. (2023). Gambaran Interleukin 6 dan Hepidin pada Penyakit Kronis yang Dapat Menyebabkan Anemia. *Medical Scope Journal*, *5*(1), 64–74.

Salsabila, N., Fadilah, F., Pramana, R. C., Mutiatul K.A., S., Romzalis, A. A., Ramadhani, D. N., … Arianti, O. F. (2021). Penentuan Sekuens Terbaik untuk Gen COI pada Crocodylus rhombifer Menggunakan SoftWare Perlprimer dan Primer Blast Sebagai Bentuk Praktikum Saat Pandemi Covid-19. *Indonesian Journal of Science Learning (IJSL)*, *2*(1), 15–21.

Sari, G. K., Sarifuddin, & Setyawati, T. (2022). Tuberkulosis Paru Post Codec Pleural Effusion: Laporan Kasus Pulmonary Tuberculosis Post Wodec Pleural Effusion: Case Report. *Jurnal Medical Profession*, *4*(2), 174–182.

Setia, Y. K., Puspawati, N., & Rukmana, R. M. (2020). Deteksi Escherichia coli dengan Metode Polymerase Chain Reaction(PCR). *Setia Budi Conference on Innovation in Health, Accounting, and Management Sciences*, *1*, 173–179.

Shi, M., Zhang, H., Fleming, J., Wei, W., Chen, H., Dai, X., … Bi, L. (2023). EspB and HtpG interact with the type III-A CRISPR/Cas system of Mycobacterium tuberculosis. *Frontiers in Molecular Biosciences*, *10*(November), 1–13.

Siallagan, C. S., Syafi'i, M., Samaullah, M. Y., Susanto, U., Pramudyawardani, E. furry, & Prastika, D. (2022). Visualisasi Gel Akrilamida Sidik Jari DNA 49 Genotipe Padi (Oryza sative L) Menggunakan Marka SSR (Simple Sequence Repeat). *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, *8*(8), 32–37. https://doi.org/10.5281/zenodo.6605393

Situmorang, P. R., Gea, N., Vera, R., Tarigan, B., & Sumanto, D. (2024). Skrining hbe metode elektroforesis gel sebagai deteksi dini β -talasemia pada mahasiswa sekolah tinggi ilmu kesehatan santa elisabeth medan 2024, *5*(September), 7078–7086.

Sugireng, & Rosdarni. (2021). Deteksi Gen nuc Isolat Bakteri Staphylococcus aureus dari Pasien Ulkus Diabetikum dengan Metode PCR, (November), 133–136. Retrieved from http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb

Supriyatin, Ibnu Ubaidillah, M., Usdiyanto, & Meli, A. (2023). Gambaran Jumlah Eritrosit pada Sedimen Urin Pasien Tuberkulosis. *Jurnal Riset Ilmu Kesehatan Umum*, *1*(3), 41–50.

Syarif, J., & Ayuningsih, I. (2020). Gambaran Nilai Hematokrit Metode Makrohematokrit Dengan Menggunakan Darah Vena Pada Penyakit Tuberkulosis Di Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat (Bbkpm) Makassar. *Jurnal Media Laboran*, *10*(2), 20.

Tamunu, M. sarra, Pareta, D. N., Hariyadi, H., & Karauwan, F. A. (2022). Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Benalu Pada Kersen Dendrophtoe pentandra (L.) Dengan Metode 2,2- diphenyl -1- Picrylhydrazyl (DPPH). *Biofarmasetik Tropis*, *5*(1), 79–82.

Triani, M., Prakosa, A. P., Idia Artika, S., & Utomo, T. (2023). Temuan Klinis Akut Pseudomembran Candidiasis Pada Pasien Tuberkulosis (TB): Laporan Kasus (Clinical Findings of Acute Akut pseudomembran candidiasis in Tuberculosis Patients: A Case Report). *Jurnal Kedokteran Gigi*, 144–150.

WHO. (2022). *WHO руководство consolidated BO3 no guidelines on tuberculosis*. *WHO Press*.

Widodo, Purlinda, D. P., & Ahmad, R. (2022). *DASAR DASAR MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*. mungkid: Pustaka Rumah Cinta.

Wiratma, D. Y., Purba, D., & Harianja, E. S. (2023). Pemeriksaan Laju Endap Darah Pada Penderita Tuberkulosis Paru Di Rumah Sakit Islam Malahayati Medan. *Jurnal Analis Laboratorium Medik*, *8*(2), 125–129.

LAMPIRAN

Surat selesai meneliti

HUM-RC	ADMINISTRASI	FORMULIR 2
	Nomor : 412/08/FR2/2025	Tanggal : 1 Agustus 2025

SURAT KETERANGAN
SELESAI PENGAMBILAN DATA/ ANALISA BAHAN HAYATI

Dengan hormat,

Dengan ini menerangkan bahwa peneliti/mahasiswa berikut ini :

Nama : Maulidyah Shofya Hasan
NIM : B1D121182
Institusi : DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky
Judul Penelitian : **Deteksi Gen Exsa Dari Isolat Mycobacterium Tuberculosis Pada Pasien Tuberculosis Dengan Metode Polimerase Chain Reaction.**

Telah selesai melakukan pengambilan data/ analisa bahan hayati :

Pada tanggal : 1 Agustus 2025
Jumlah subjek : ± 15 sampel Isolat MTB
Jenis data : Data Primer

Dengan staf pendamping/pembimbing :

Nama : Zainul Muttaqin, M.BioMed
Konsultan : -

Surat keterangan ini juga merupakan penjelasan bahwa peneliti/mahasiswa diatas tidak mempunyai sangkutan lagi pada unit/laboratorium kami.

Demikian surat ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Pendamping/Pembimbing

Zainul Muttaqin, M.BioMed
NIP

Mengetahui,
Kepala Laboratorium,

HUM-RC
science for a better future

dr. Rusdina Bte Ladju, Ph.D
NIP 198108302012122002

Formulir Keterangan Selesai Pengambilan Data/ Analisa Bahan Hayati Hal. 1 dari 1

Surat Penelitian Dari Gubernur Kota Makassar

PEMERINTAH PROVINSI SULAWESI SELATAN
DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU SATU PINTU
Jl.Bougenville No.5 Telp. (0411) 441077 Fax. (0411) 448936
Website : http://simap-new.sulselprov.go.id Email : ptsp@sulselprov.go.id
Makassar 90231

Nomor : **14471/S.01/PTSP/2025**
Lampiran : -
Perihal : **Izin penelitian**

Kepada Yth.
Direktur HUM-RC RSP Universitas Hasanuddin Makassar

di-
Tempat

Berdasarkan surat Kepala LPPM Universitas Megarezky, Makassar Nomor : 1945/07.091056/VI/2025 tanggal 26 Juni 2025 perihal tersebut diatas, mahasiswa/peneliti dibawah ini:

N a m a	: **MAULIDYAH SHOFYA HASAN**
Nomor Pokok	: B1D121182
Program Studi	: Teknologi Laboratorium Medis
Pekerjaan/Lembaga	: Mahasiswa (S1)
Alamat	: Jl. Garuda No. 3-AD, Makassar

mpptsp
PROVINSI SULAWESI SELATAN

Bermaksud untuk melakukan penelitian di daerah/kantor saudara dalam rangka menyusun SKRIPSI, dengan judul :

" DETEKSI GEN ExsA DARI ISOLAT Mycobacterium tuberculosis (MTB) PADA PASIEN TUBERCULOSIS DENGAN METODE POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) "

Yang akan dilaksanakan dari : Tgl. ***30 Juni s/d 31 Agustus 2025***

Sehubungan dengan hal tersebut diatas, pada prinsipnya kami ***menyetujui*** kegiatan dimaksud dengan ketentuan yang tertera di belakang surat izin penelitian.

Demikian Surat Keterangan ini diberikan agar dipergunakan sebagaimana mestinya.

Diterbitkan di Makassar
Pada Tanggal 30 Juni 2025

KEPALA DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU SATU PINTU PROVINSI SULAWESI SELATAN

ASRUL SANI, S.H., M.Si.
Pangkat : PEMBINA UTAMA MUDA (IV/c)
Nip : 19750321 200312 1 008

Tembusan Yth
1. Kepala LPPM Universitas Megarezky, Makassar di Makassar;
2. *Pertinggal.*

Surat Penelitian Dari Lppm Universitas Megarezky Makassar

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT (LPPM)
UNIVERSITAS MEGAREZKY
SK. Menristekdikti RI. No.1194/KPT/I/2018 Terakreditasi BAN PT

Kampus II : Jalan Antang Raya No. 43 Telp. 0411 - 452 401 - 496401 Fax. 496614 Website : http://universitasmegarezky.ac.id Email : info@universitasmegarezky.ac.id

Makassar, 26 Juni 2025

Nomor : /07.091056/VI/2025
Lampiran : -
Perihal : **Rekomendasi Izin Penelitian**

Kepada
Yth : Bapak Gubernur Prov. SulSel
Cq. Kepala UPT P2T BKPMD-PTSP

Di
Makassar

Dengan hormat,
Dalam rangka penyelesaian tugas akhir Mahasiswa Fakultas Teknologi Kesehatan Program Studi D-VI Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky Makassar, maka bersama ini kami mohon kiranya Bapak/Ibu berkenan menerima Mahasiswa (i) kami yang tersebut namanya di bawah ini untuk melakukan Penelitian di Instansi / wilayah kerja yang Bapak/Ibu Pimpin.

Nama	**: Maulidyah Shofya Hasan**
N I M	**: B1D121182**
Judul Skripsi/KTI	**: Deteksi Gen ExsA pada suspek penderita Tuberkulosis menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)**
Pembimbing	**:1. Dr. Nirmawati Angria, S.Si.,M.,Kes** **2. A. Meryam Susanti, S. Tr. Ak.,M.Imun**
Tempat Penelitian	**: Laboratorium Biologi Molekul Hasanuddin University Medical Research Center (HUM-RC)**

Demikian surat permohonan penelitian ini, atas bantuan dan kerjasamanya diucapkan terima kasih.

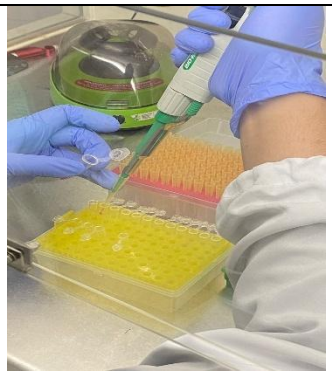
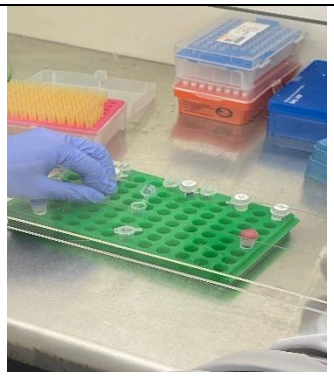
Kepala LPPM

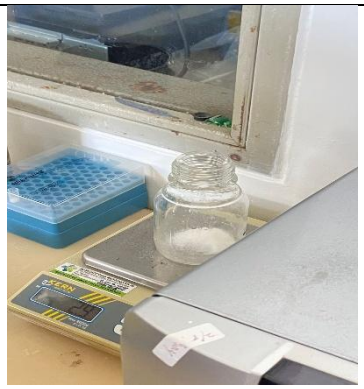
Ns. Syamsyuriyana Sabar, M.Kep
NIDN: 09 151186 02

Tembusan Kepada Yth:
1. Yang Bersangkutan
2. Arsip

Dokumentasi

Tahapan PCR

 Proses sampel dipindahkan ke spin column	 Proses penambahan reagen	 Inkubasi selama 5 menit
 Proses sampel dan reagen diretator	 Vortex	 Proses sentrifugasi
 Proses penambahan reagen W1	 Proses penambahan reagen W2	 Proses sentrifugasi

 Proses penimbangan agarose ditimbang dan dilarutkan dengan TBE	 Penambahan larutan etBr	 Proses agarose dan larutan TBE di homogenkan
 Proses agarose dan TBE dipanaskan	 Proses running alat elektroforesis	 Proses penuangan agar kedalam cetakan
 Proses hasil agarose dimasukkan kedalam cetakan	 Proses pemipetan DNA ke dalam cetakan	 Pembacaan hasil di komputer