SKRIPSI

PERBANDINGAN HASIL PEMERIKSAAN MTB *(Mycobacterium tuberculosis)* DENGAN METODE TES CEPAT MOLEKULER (TCM) DAN *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR) DI KOTA MAKASSAR

Disusun dan Diajukan sebagai salah satu syarat dalam meraih Sarjana Terapan Kesehatan (S.Tr.Kes) Pada Program Studi Diploma Empat (D-IV) Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Teknologi Kesehatan Universitas Megarezky

FIRDA MADO

B1D121017

PROGRAM STUDI D-IV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS

FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN

UNIVERSITAS MEGAREZKY

MAKASSAR

2025

HALAMAN JUDUL

SKRIPSI

PERBANDINGAN HASIL PEMERIKSAAN MTB *(Mycobacterium tuberculosis)* DENGAN METODE TES CEPAT MOLEKULER (TCM) DAN *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR) DI KOTA MAKASSAR

COMPARISON OF MTB (*Mycobacterium tuberculosis*) EXAMINATION RESULTS WITH MOLECULAR RAPID TEST (TCM) AND POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) METHODS

Firda Mado

B1D121017

Dibimbing Oleh :

Pembimbing I

Indas Wari Rahman, S.Si., M. Kes

Pembimbing II

Dr. Hj. Arfenti Amir, S.Pd. M. Pd

Penguji

Nurlaela Alydrus, S.Si., M. Kes

PROGRAM STUDI D-IV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS

FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN

UNIVERSITAS MEGAREZKY

MAKASSAR

2025

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

PERBANDINGAN HASIL PEMERIKSAAN MTB (*Mycobacterium tuberculosis)* DENGAN METODE TES CEPAT MOLEKULER (TCM) DAN *POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)*

Disusun dan diajukan oleh

FIRDA MADO

Nomor Induk Mahasiswa B1D121017

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi
Pada tangggal 16 Juli 2025

Dan diyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Tim Penguji	Tanda Tangan
1. Nurlaela Alydrus, S.Si.,M.kes	( )
2. Indaswari Rahman, S. Si., M.Kes	( )
3. Dr. Hj.Arfenti Amir, S.Pd.,M.Pd	( )

Mengetahui,

Dekan	Ketua Program Studi
Fakultas Teknologi Kesehatan	DIV Teknologi Laboratorium Medis
Prof. Dr. Dra. Apt. Hj. Asnah Marzuki, M.Si	Dr. Nurhawati Angria, S.Si., M.Kes
NUPTK. 1350727628230010	NUPTK. 6950765666230332

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.669/T/07.091056/ VII /2025

Yang bertanda tangan di bawah ini,

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

NIDN : 0915118602

Jabatan : Ketua LPPM

Menyatakan bahwa :

Nama : Firda Mado

NIM : B1D121017

Prodi : D4 Teknologi Laboratorium Medis

Judul Skripsi/KTI : Perbandingan Hasil Pemeriksaan MTB (Mycobacterium tuberculosis) Dengan Mengunakan Metode Tes Cepat Molekuler (TCM) dan Polymerase Chain Reaction (PCR)

Telah melalui uji *similarity* dengan software *Turnitin* dan dinyatakan lolos dengan **persentase 23%** sesuai bukti terlampir.

Demikian Surat Keterangan ini di buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 8 juli 2025
Ketua,

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

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan mengucap syukur atas rahmat Allah Swt, Skripsi ini saya persembahkan sebagai tanda bakti kepada mama saya tercinta waimba Mado dan kepada Alm. Jafar Mado rang yang sangat berjasa dalam hidup saya, yang selalu mengusahakan anaknya menempuh pendidikan setinggi-tingginya. Terimakasih atas kasih sayang tanpa batas yang tak pernah lekang oleh waktu, atas kesabaran dan pengorbanan yang selalu mengiringi perjalanan saya, terimakasih telah menjadi sumber kekuatan dan inspirasi dalam setiap langkah yang saya tempuh.

MOTTO

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”

(Q.S Al-Baqarah:286)

“Rasakanlah setiap proses yang kamu tempuh dalam hidupmu, sehingga kamu tau betapa hebatnya dirimu sudah berjuang sampai detik ini”

“hatiku tenang mengetahui apa yang melewatkanku tidak akan pernah menjadi takdirku, dan apa yang ditakdirkan untukku tidak akan pernah melewatkanku”

(Umar Bin Khattab)

CURRICULUM VITAE



A. Biodata

1. Nama : Firda Mado
2. Jenis Kelamin : Perempuan
3. Tempat tanggal lahir : Dobo, 4 Oktober 2003
4. Agama : Islam
5. Alamat : Jl Ali Moertopo, Kab Kepulauan Aru

B. Riwayat pendidikan

1. Pendidikan Dasar : SD Negeri 5 Inpres Dobo
2. Pendidikan Menengah Pertama : SMP Negeri 1 PP Aru
3. Pendidikan Menengah Atas : SMA Negeri 3 Kepulauan Aru

Orang Tua

a. Ayah : Jafar Mado
b. Ibu : Waimba Mado

C. Pesan Dan Kesan

Melanjutkan pendidikan di universitas Megarezky Makassar merupakan keputusan yang tepat sekaligus kesempatan yang berharga bagi saya, saya bisa mendaptkan kesempatan untuk bisa mempelajari ilmu akademik maupun non akademik yang pastinya bisa berguna saat saya lulus dari kampus ini

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 "**Perbandingan Hasil Pemeriksaan MTB *(Mycobacterium tuberculosis)* Dengan Metode Tes Cepat Molekuler TCM dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)**" Penyusunan Skripsi Ini Merupakan Salah Satu Syarat Dalam Menyelesaikan Program Sarjana D-IV 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 Alm Jafar Mado dan Waimba Mado, 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. Dr. Dra. Apt. Hj. Asnah Marzuki, M.Si.** Selaku Dekan Fakultas Teknologi Kesehatan Universitas Megarezky, atas kesempatan dan dukungan yang diberikan selama masa studi

6. **Ibu Dr. Nirmawati Angria, S.Si., M. Kes** selaku Ketua Prodi D-IV Teknologi Kesehatan Universitas Megarezky, atas bimbingan akademik yang berkelanjutan dan inspiratif
7. **Dosen pembimbing I Ibu Indas Wari Rahman, S.Si., M. Kes** dan Dosen **pembimbing II Ibu Dr. Hj. Arfenti Amir, S.Pd. M,Pd**. Yang telah memebrikan arahan, saran dan evaluasi dalam penyusunan skripsi ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
8. **Ibu Dr. Santi, S.Si.,M.Si** sebagai Pembimbing Akademik (PA), atas pendampingan dan bimbingan akademik selama masa penulis studi
9. Bapak dan Ibu Dosen serta Staf Universitas Megarezky atas ilmu, perhatian dan pelayanan yang diberikan selama proses studi.
10. Rekan-rekan mahasiswa program studi Angkatan 21 D-IV Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Teknologi Kesehatan khususnya Kelas 2021 A yang telah memberikan dukungan dan bantuan selama perkuliahan

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Maka saran dan kritik yang membangun akan sangat penulis harapkan. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Wassalamu'Alaikum WarahmatullahiWabarakatuh

Makassar 16 Agustus 2025

Penulis

ABSTRAK

Firda Mado, B1D121017, Perbandingan Hasil Pemeriksaan (MTB) *Mycobacterium tuberculosis* Dengan Menggunakan Metode Tes Cepat Molekuler (TCM) dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Dibimbing oleh Indas Wari Rahman dan Arfenti Amir

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit infeksi menular yang masih menjadi masalah kesehatan masyarakat di Indonesia. Deteksi dini *Mycobacterium tuberculosis* sangat penting dalam upaya pengendalian penyakit.Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan hasil pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* menggunakan dua metode molekuler, yaitu Tes Cepat Molekuler (TCM) dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Pemeriksaan TCM dilakukan menggunakan alat otomatis berbasis Real-time PCR yang dapat mendeteksi DNA *Mycobacterium tuberkulosis* sekaligus resistansi terhadap rifampisin. Sedangkan metode PCR dalam penelitian ini dilakukan dengan teknik amplifikasi DNA bakteri menggunakan primer spesifik untuk mendeteksi keberadaan *Mycobacterium tuberculosis.* Jenis penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan *cross-sectional study* dengan jumlah sampel sebanyak 15 sputum pasien TB. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode TCM mendeteksi 15 sampel positif, sedangkan metode PCR mendeteksi 13 sampel positif dengan target DNA 123 bp. Sehingga dapat disimpulkan bahwa metode TCM memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode PCR, dengan hasil positif 100% pada TCM dan 86,67% pada PCR

Kata Kunci: Tuberkulosis, sputum, *Mycobacterium tuberculosis*, TCM, PCR

ABSTRACT

Firda Mado, B1D121017. Comparison of Examination Results for Mycobacterium tuberculosis Using the Rapid Molecular Test (TCM) and Polymerase Chain Reaction (PCR). Supervised by Indas Wari Rahman and Arfenti Amir.

Tuberculosis (TB) is an infectious disease that remains a major public health problem in Indonesia. Early detection of Mycobacterium tuberculosis is crucial for effective disease control. This study aims to compare the diagnostic outcomes of Mycobacterium tuberculosis using two molecular methods: the Rapid Molecular Test (TCM) and the Polymerase Chain Reaction (PCR). The TCM examination was conducted with an automated real-time PCR–based device capable of detecting Mycobacterium tuberculosis DNA as well as resistance to rifampicin. Meanwhile, the PCR method in this study was carried out through DNA amplification using specific primers to detect the presence of Mycobacterium tuberculosis.

This research employed a descriptive, cross-sectional design with a total of 15 sputum samples from TB patients. The findings revealed that the TCM method detected 15 positive samples, while the PCR method detected 13 positive samples targeting a 123 bp DNA fragment. It can therefore be concluded that the TCM method demonstrates higher sensitivity compared to PCR, with positive detection rates of 100% for TCM and 86.67% for PCR.

Keywords: Tuberculosis, sputum, Mycobacterium tuberculosis, TCM, PCR



DAFTAR ISI

COVER ..... **i**
HALAMAN JUDUL ..... **ii**
PLAGIARISM SCAN REPORT ..... **i**
TURNITIN ..... **i**
HALAMAN PERSEMBAHAN ..... **ii**
MOTTO ..... **iii**
CURRICULUM VITAE ..... **vii**
KATA PENGANTAR ..... **viii**
ABSTRAK ..... **x**
DAFTAR ISI ..... **xii**
DAFTAR GAMBAR ..... **xiv**
DAFTAR SINGKATAN ..... **xv**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **xvi**
BAB I PENDAHULUAN ..... **xvi**
A.Latar Belakang 1
B.Rumusan Masalah 5
C.Tujuan Penelitian 5
D.Manfaat Penelitian 6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA **7**
A.Tinjauan Umum Tentang Tuberkulosis 7
B.Tinjauan Umum Tentang *M ycobacterium tuberkulosis* 13
C.Tinjauan Umum Diagnosis tuberkulosis 16
D.Tinajuan Umum Metode Tes Cepat Molekuler (TCM) 22
E.Tinjuan Umum Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) 26
F.Kerangka Teori 33
G.Kerangka Konsep 34
H.Definisi Operasional 34
BAB III METODE PENELITIAN **35**

A.Jenis Penelitian.....35
B.Waktu dan Lokasi Penelitian.....35
C.Populasi dan Sampel 35
D.Kriteria Sampel 36
E.Alat Dan Bahan 36
F.Prosedur Kerja Penelitian 37
G.Interpretasi Hasil 40
H.Analisis Data 40
I.Alur Penelitian 41
J.Teknik Pengumpulan Data 41
K.Etika Penelitian 41
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 43
A.Hasil Penelitian 43
B.Pembahasan 47
BAB V PENUTUP.....54
A. kesimpulan.....54
B. Saran.....54
DAFTAR PUSTAKA.....55

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* pewarnaan BTA……...….15
Gambar 2.2 Katrid Xpert MTB/RIF.....…...…...24
Gambar 2.3 Alat GeneXpert…….....….…..…....24
Gambar 2.4 *Polymerase Chain Reaction* (PCR)…...….....…….....27
Gambar 2.5 Komponen Dan tahapan PCR ….....…….....29
Gambar 2.6 Serangkaian Alat Elektroforesis……...…..31

DAFTAR SINGKATAN

A	: Adenin
Bp	: *base pair*
C	: *Cytosine*
dNTP	: *Deoksiribosanukleotida Trifosfat*
DNA	: *Deoksyribonucleic Acid*
EtBr	: *Ethidium Bromide*
G	: Guanin
HIV	: *Human Immunodeficienty Virus*
IGRA	: *Interferon Gamma Releasing Assay*
MTB/RIF	: *Mycobacterium tuberculosis*/ Rifampisin
$MgCl_2$	: Magnesium Klorida
nm	*:* Nanometer
PCR	: *Polymerase Chain Reaction*
TBC	: Tuberkulosis
MTB	: *Mycobacterium tuberculosis*
WHO	: *World Health Organization*
TCM	: Tes Cepat Molekuler
TBE	*:* Tris Barate EDTA
Taq	: *Thermus aquaticus*
HUM-RC	: *Hasanudin University Medical Research Center*

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Master DataPenelitian.……..…59
Lampiran 2. Dokumentasi ……..……..…60
Lampiran 3. Hasil Pemeriksaan TCM…….…….62
Lampiran 4. Surat Rekomendasi Izin Penelitian Penelitian……...…..…63
Lampiran 5. Surat Keterangan Pengantar Penelitian……...…….…64
Lampiran 6. Surat Izin Penelitian……...….….……65
Lampiran 7. Surat Kode Etik…….…..……66
Lampiran 8. Surat Keterangan Telah Melaksanakan Penelitian di (BPKPM).....67
Lampiran 9. Surat Keterangan Telah Melaksanakan Penelitian di HUMRC.....68

BAB I
PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tuberkulosis (TBC) merupakan penyakit yang diakibatkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*, penyakit ini menyerang sistem pernafasan. Penyakit ini dapat menyebar melalui pembuluh darah sehingga infeksi dapat menyebar ke beberapa sistem organ (Zuraida dkk., 2021). Kuman berbentuk batang dan bersifat aerob ini tahan terhadap asam. Penyakit ini menyebar melalui udara saat individu dengan TBC aktif batuk, bersin, atau berbicara, melepaskan droplet yang mengandung bakteri. Orang yang menghirup droplet ini bisa terinfeksi, terutama dalam lingkungan dengan ventilasi buruk, hunian padat, dan individu dengan sistem imun lemah. Meskipun TBC dapat dicegah dan diobati secara efektif, penanganannya menghadapi banyak tantangan (Pramono dkk., 2023).

Orang yang terinfeksi oleh *Mycobacterium tuberculosis* berisiko 10% untuk terjadinya TB paru. Orang dengan gangguan sistem kekebalan tubuh, seperti orang yang hidup dengan HIV, diabetes, kekurangan gizi, diabetes atau orang yang menggunakan tembakau, berisiko lebih tinggi untuk jatuh sakit (Ramadhan dkk., 2017).

Berdasarkan data *World Health Organization* tahun 2021, sebanyak 1.6 juta pasien TBC meninggal di tahun 2021 secara global dan TBC merupakan penyakit infeksi kedua terbanyak di dunia. Pada tahun 2021, diprediksi terdapat

10 Juta orang menderita TBC, dimana pria merupakan penderita terbanyak (6 juta kasus) di dunia (WHO, 2022).

Menurut Data Kementrian Kesehatan, pada tahun 2021 terdapat sekitar 397.377 kasus Tuberkulosis (TBC) di seluruh Indonesia. Angka tersebut bertambah dibanding tahun sebelumnya, yakni 351.936 kasus pada 2020. Adapun kasus TBC paling banyak ditemukan di kelompok umur 45–54 tahun dengan proporsi 17,5% dari total kasus nasional. Diikuti kelompok umur 25–34 tahun dengan proporsi 17,1%, dan kelompok umur 15–24 tahun sebanyak 16,9% (Kemenkes, 2022). Berdasarkan *Global TBC Report* Tahun 2023, Indonesia sendiri berada pada posisi kedua dengan jumlah beban kasus TBC terbanyak di dunia setelah India dan Cina. Dengan jumlah kasus TBC diperkirakan sebanyak 1.060.000 kasus TBC dan 134.000 kematian akibat TBC per tahun di Indonesia (terdapat 17 orang yang meninggal akibat TBC setiap jamnya) (Kemenkes, 2024).

Di Provinsi Sulawesi Selatan, jumlah penderita tuberkulosis paru di kabupaten/kota pada tahun 2019 sebanyak 19.071 jiwa, laki-laki sebanyak 11.226 jiwa, perempuan sebanyak 7.845 jiwa, dan jumlah sembuh pada tahun 2019 Jumlahnya 5.366 (46,75%). Dari sisi jumlah kasus tuberkulosis di Sulawesi Selatan, Kota Makassar menempati urutan pertama dengan 5.418 kasus. Berdasarkan data Riskdas tahun 2018, prevalensi tuberkulosis berdasarkan riwayat diagnosis dokter di Kota Makassar sebesar 0,47% Jumlah kasus baru TBC pada tahun 2021 cenderung menurun, yaitu sebanyak 2.614 kasus (Kemenkes, 2019).

Pada umumnya metode yang digunakan adalah metode konvensional seperti pemeriksaan mikroskopik basil tahan asam (BTA) dan pemeriksaan kultur. Pemeriksaan mikroskopik cukup cepat dan ekonomis akan tetapi sensitivitas dan spesifitasnya masih kurang sedangkan pemeriksaan kultur memerlukan waktu yang cukup lama, sekitar 3-12 minggu (Jasaputra dkk., 2010)

Mikroskopik memiliki banyak faktor yang mempengaruhi hasil seperti kesalahan pada proses pembuatan preparat seperti ukuran tidak 2x3, ketebalan tidak rata, kebersihan preparat dan kesalahan pada proses pewarnaan sehingga dapat terjadinya kesalahan pada saat pembacaan (Zuraida dkk., 2021). pewarnaan Ziehl Neelsen memiliki sensitivitas yang rendah dan memiliki kualitas yang berbeda-beda karena dipengaruhi oleh tingkat keterampilan tenaga laboratorium dalam melakukan pemeriksaan Sensitivitas pemeriksaan mikroskopis (Indrayati dkk., 2024).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Ramadhani dan Eka (2017) mengenai Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* Dengan Pemeriksaan Mikroskopis Dan Teknik PCR Pada Penderita tuberkulosis Paru dapat dilihat perbedaan yang sangat signifikan antara pemeriksaan secara mikroskopis dan dengan teknik PCR. Dari jumlah sampel 29 hanya 1 sampel yang positif (3,4%) secara mikroskopis, sedangkan pemeriksaan dengan teknik PCR ditemukan 19 sampel yang positif 65,5 (Ramadhan dkk., 2017).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Inelvi dkk, (2022) mengenai Perbedaan Hasil Pemeriksaan Sputum Pada Suspek tuberkulosis validitas GeneXpert untuk mendiagnosis suspek TB paru dengan BTA negatif

yaitu nilai sensitivitas 81,8%, spesifisitas 96.5%, nilai prediksi positif 90%, nilai prediksi negative 93,3% dan akurasi 92,5%. Dan disimpulkan GeneXpert memiliki validitas yaitu sensitivitas, spesifisitas, nilai prediksi positif, nilai prediksi negatif dan akurasi yang tinggi sebagai alat diagnostik pada suspek TBC paru BTA negatif (Inelvi dkk., 2021)

Berdasarkan penelitian pendukung yang telah dilakukan oleh (Blakemore dkk., 2010) melaporkan bahwa GeneXpert memiliki sensitivitas 98% pada sampel BTA positif dan 72% pada sampel BTA negatif, dengan waktu hasil yang jauh lebih cepat dibandingkan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Sementara itu, penelitian (Huh dkk., 2014) menegaskan bahwa GeneXpert unggul pada kasus Tuberkulosis dengan beban bakteri rendah yang seringkali sulit terdeteksi oleh *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Dengan demikian, meskipun *Polymerase Chain Reaction* (PCR) tetap memiliki peran penting, GeneXpert memiliki waktu yang lebih cepat untuk diagnostik khususnya untuk deteksi dini dan penanganan resistensi obat.

TCM merupakan suatu metode baru berbasis molekular yang digunakan untuk mendeteksi bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang mengalami mutasi genetik sehingga kuman menjadi resistensi terhadap obat, terutama pada obat rifampisin (Amalia, 2017)

Pemeriksaan metode PCR memiliki beberapa kelebihan diantaranya memiliki sensitifitas tinggi, sangat cepat, mampu mendeteksi berbagai jenis mikroorganisme dalam kondisi masih hidup atau sudah mati (Irianto, 2017) Salah satu langkah kunci untuk memastikan hasil yang tepat, konsisten dan berhasil

dalam teknik PCR adalah ekstraksi DNA. Ekstraksi DNA merupakan suatu usaha memisahkan materi genetik (DNA) dari komponen sel lainnya seperti lemak, karbohidrat, protein dan lain-lain. Ekstraksi DNA terdiri dari tiga proses yakni melisiskan dinding sel, pemisahan bagian-bagian sel dengan DNA serta pemurnian DNA (Fihiruddin dkk., 2022).

Berdasarkan uraian diatas maka perlu dilakukan penelitian untuk membandingkan hasil pemeriksaan *Microbacterium tuberculosis* menggunakan Tes Cepat Molekuler (TCM) dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana hasil perbandingan pemeriksaan MTB menggunakan Tes Cepat Molekuler (TCM) dan *Polyemerase Chain Reaction* (PCR)?
2. Apakah terdapat *Mycobacterium tuberculosis* pada metode metode Tes Cepat Molekuler (TCM)?
3. Apakah terdapat *Mycobacterium tuberculosis* pada metode *Polyemerase Chain Reaction* (PCR) ?

C. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui hasil perbandingan pemeriksaan MTB menggunakan Tes Cepat Molekuler (TCM) dan *Polyemerase Chain Reaction* (PCR)
2. Untuk mengetahui Apakah terdapat *Mycobacterium tuberculosis* pada Metode Tes Cepat Molekuler (TCM)
3. Untuk mengetahui Apakah terdapat *Mycobacterium tuberculosis* pada metode *Polyemerase Chain Reaction* (PCR)

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

   Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan dalam ilmu bidang bakteriologi yang berkaitan dengan uji perbandingan hasil *Mycobacterium tuberculosis* menggunakan metode Tes Cepat Molekuler (TCM) dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

2. Manfaat Praktis

   a. Bagi instalasi sebagai acuan terhadap pemeriksaan molekuler untuk menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan metode Tes cepat molekuler (TCM)

   b. Bagi masyarakat untuk membantu mempercepat dan meningkatkan akurasi diagnosis *Mycobacterium tubercolis* sehingga masyarakat dapat segera mendapatkan pengobatan yang tepat

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Tentang Tuberkulosis

1. Definisi Tuberkulosis

Tuberkulosis paru penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberkulosis* dan termasuk penyakit yang menular ketika penderita tuberkulosis paru bicara, bersin atau batuk yang secara tidak langsung menularkan kepada orang lain yaitu melalui droplet (Kristini & Hamidah, 2020).

Tuberkulosis adalah penyebab infeksi utama morbiditas dan mortalitas secara global. Tuberkulosis dapat menyebar dengan mudah melalui bakteri yang terhirup saat penderita bersin atau batuk. Ada sekitar 23% dari populasi di dunia terinfeksi bakteri tuberkulosis dan 5-15% akan menderita suatu waktu (Saktiawati dkk., 2019). Bila tuberkulosis menyerang seseorang yang memiliki sistem kekebalan yang baik maka bakteri tersebut akan dalam keadaan inaktif atau tidur. Oleh sebab itu, orang yang mengidap TB inaktif tidak akan menimbulkan gejala serta menularkan kepada orang lain. Namun hal ini dapat berubah apabila seseorang penderita TB inaktif mengalami penurunan sistem kekebalan tubuh maka bakteri TB yang awalnya inaktif akan berubah menjadi aktif (Saktiawati dkk., 2019).

2. Patofisiologi Tuberkulosis

Bakteri ini sangat berperan dalam penularan dan penyebab terjadinya penyakit tuberkulosis (TB) paru jika bakteri yang melayang di

udara tersebut terhirup oleh manusia sehat. Bakteri yang terhirup akan masuk ke alveoli melalui jalan nafas, alveoli adalah tempat bakteri berkumpul dan bakteri mulai memperbanyak diri. MTB juga dapat masuk ke bagian tubuh lainnya melalui sistem limfe dan cairan tubuh. Sistem imun dan sistem kekebalan tubuh akan merespon dengan cara melakukan reaksi inflamasi, Fagosit menekan bakteri, dan limfosit spesifik tuberculosis menghancurkan bakteri dan jaringan normal. Reaksi jaringan tersebut menimbulkan penumpukan eksudat di dalam alveoli yang bisa mengakibatkan bronchopneumonia. Setelah pemajanan biasanya terjadi infeksi awal pada 2 sampai 10 minggu. Bakteri TB paru dapat berada disemua tempat. saat bersin, batuk, atau berbicara, seseorang klien TB paru secara tidak sengaja menyebarkan doplet nuklei dan terjatuh ke lantai, tanah, atau tempat lainnya. Karena terkena paparan sinar matahari atau panasnya suhu udara, doplet nuklei tersebut dapat menguap. Menguapnya droplet bakteri ke udara dibantu dengan pergerakan aliran angin yang menyebabkan bakteri tuberkulosis yang terkandung di dalam doplet nuklei terbang melayang mengikuti aliran udara (Kenedyanti & Sulistyorini, 2017).

Apabila bakteri tersebut terhirup oleh orang sehat maka orang itu berpotensi terinfeksi bakteri tuberkulosis. Bakteri bisa bertahan hidup beberapa waktu di bawah paparan sinar matahari sehingga memungkinkan bakteri bisa terbang jauh terbawa aliran udara, dan bila terbang ke tempat yang lembab dan gelap akan membuat bakteri hidup lebih lama.

Penyebaran bakteri juga bisa terjadi ketika sore atau malam hari sehingga tidak terpapar oleh sinar matahari yang menyebabkan bakteri tetap hidup. cahaya matahari langsung dapat mematikan bakteri tuberkulosis (TB) dalam waktu 5 menit. Oleh sebab itu, cara yang paling cocok untuk mencegah tuberkulosis di daerah tropis dengan memanfaatkan sinar matahari. Tetapi di tempat yang gelap dan yang tidak terkena sinar matahari kuman- kuman dapat bertahan hidup selama bertahun-tahun sehingga memungkinkan terjadi banyak penularan di rumah yang gelap dan lembab. Jarak waktus ekitar 5 menit tersebut memungkinkan bakteri berpindah dari rumah penderita ke rumah bukan penderita dengan dibawa angin bersama dengan debu yang mengandung *Mycobacterion tuberculosis* (Kenedyanti & Sulistyorini, 2017).

Interaksi antara MTB dengan sistem kekebalan tubuh pada masa awal infeksi membentuk granuloma. Granuloma terdiri atas gumpalan basil hidup dan mati yang dikelilingi oleh makrofag. Granulomas diubah menjadi massa jaringan jaringan fibrosa, Bagian sentral dari massa tersebut disebut *ghon* tuberculosis dan menjadi nekrotik membentuk massa seperti keju. Hal ini akan menjadi klasifikasi dan akhirnya membentuk jaringan kolagen kemudian bakteri menjadi dorman. Setelah infeksi awal, seseorang dapat mengalami penyakit aktif karena gangguan atau respon yang inadekuat dari respon sistem imun. Penyakit dapat juga aktif dengan infeksi ulang dan aktivasi bakteri dorman dimana bakteri yang sebelumnya tidak aktif kembali menjadi aktif. Pada kasus ini, *ghon tubrele* memecah

sehingga menghasilkan *necrotizing caseosa* di dalam bronkhus. Bakteri kemudian menjadi tersebar di udara, mengakibatkan penyebaran penyakit lebih jauh. Tuberkulosisl yang menyerah menyembuh membentuk jaringan parut. Paru yang terinfeksi menjadi lebih membengkak, menyebabkan terjadinya bronkopneumonia lebih lanjut (Sigalingging dkk., 2019).

Penyakit Tuberkulosis tidak hanya menyerang paru saja, seperti pengetahuan masyarakat selama ini. Menurut (Rahmaniati & Apriyani, 2018) Tuberkulosis ada beberapa macam tingkatan, yaitu:

1) Tuberkulosis Paru Tuberkulosis adalah tuberkulosisyang menyerang jaringan paru(parenkim paru) tidak termasuk pleura (selaput paru).
2) tuberkulosis ekstra paru Tuberkulosis ekstra paru adalah tuberkulosis yang menyerang organ tubuh lain selain paru, misalnya apleura,selaput otak, selaput jantung (pericardium) kelenjar lymfe, tulang persendian, kulit, usus, ginjal, saluran kencing, alat kelamin dan lain-lain.

TBC ekstra paru dibagi berdasarkan pada tingkat keparahan penyakit yaitu:

1. TBC Ekstra Paru Ringan

Misalnya TBC kelenjar limfe. pleuriti seksudativa unilateral tulang (kecuali tulang belakang), sendi, dan kelenjar adrenal.

2. TBC Ekstra Paru Berat

Misalnya meningitis, perikarditis. peritionitis. millier, pleuriti seksudativa duplex, TBC tulang belakang. TBC usus, TBC saluran kencing dan alat kelamin.

3. Klasifikasi Tuberkulosis

Menurut Menteri (Menteri Kesehatan Republik Indonesia, 2019) Diagnosis tuberkulosis dengan konfirmasi bakteriologis atau klinis dapat diklasifikasikan berdasarkan tiga kelompok yaitu :

1. Klasifikasi berdasarkan lokasi anatomis
    a) Tuberkulosis paru adalah kasus tuberkulosis yang melibatkan parenkim paru atau trakeobronkial. Tuberkulosis milier diklasifikasikan sebagai tuberkulosis paru karena terdapat lesi paru. Pasien yang megalami tuberkulosis paru dan ekstra paru harus diklasifikasikan sebagai kasus tuberkulosis paru.
    b) Tuberkulosis ekstra paru adalah kasus tuberkulosis yang melibatkan organ diluar parenkim paru seperti pleura, kelenjar getah bening. abdomen, saluran genitorurinaria, kulit, sendi, tulang, selaput otak. Kasus tuberkulosis ekstra paru dapat ditegakan secara klinis atau histologis setelah diupayakan semaksimal mungkin dengan konfirmasi bakteriologis
2. Klasifikasi berdasarkan riwayat pengobatan

1) Pasien baru adalah pasien belum pernah mendapat obat anti tuberkulosis (OAT) sebelumnya atau riwayat mendapatkan OAT kurang dari 1 bulan. (<dari 28 dosis bila memakai obat program).
2) Pasien dengan riwayat pengobatan adalah pasien yang pernah mendaptakan OAT 1 bulan atau lebih (>28 dosis bila memakai obat program).

3) Pasien kambuh adalah pasien yang sebelumnya pernah mendapatkan OAT dan dinyatakan sembuh atau pengobatan lengkap pada akhir pengobatan dan saat ini ditegakkan diagnosis Tuberkulosis kembali lagi (karena reaktivitas yang disebabkan reinfeksi).

4) Pada pasien pengobatan setalah gagal adalah pasien yang sebelumnya pernah mendapatkan OAT dan dinyatakan gagal pada akhir pengobatan.

4. Klasifikasi berdasarkan hasil pemeriksaann kepekaan obat

1) Monoresisten yaitu resisten terhadap salah satu jenis OAT lini pertama.Poliresisten yaitu resistensi terhadap lebih dari satu jenis OAT lini pertama selain isoniazid dan rifampisin secara bersamaan.

2) Multidrug resisten yaitum minimal resisten terhadap isoniazid dan rifampisin secara bersamaan.

3) Extensive drug resisten yaitu resisten terhadap salah satu OAT golongan fluorokuinolon dan salah satu dari OAT lini kedua jenis suntikan.

4) Rifampisin resisten yaitu resisten terhadap rifampisin baik menggunakan metode genotip (tes cepat) atau metode fenotip (konvensional) dengan atau tanpa resistensi terhadap OAT lain yang terdeteksi.

5. Gejala Dan Tanda Klinis Tuberkulosis

Gejala tuberkulosis paru dapat berbeda beda pada setiap orang, tergantung respon imun, tingkat keparahan infeksi, dan variabel lainnya. Namun, ada beberapa gejala khas yang biasa terlihat pada penderita tuberkulosis paru. Batuk kronis merupakan gejala yang paling umum,

seringkali disertai dengan batuk berlendir atau lendir berdarah (Mirna, 2021).

Penderita tuberkulosis paru biasanya mengalami demam ringan hingga berat, Demam ini bisa bertahan lama, tergantung pada tingkat keparahan infeksinya. Penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan merupakan indikator umum tuberkulosis paru. Penderita sering kali mengalami penurunan nafsu makan dan penurunan berat badan yang signifikan dalam waktu singkat (Hengki, 2018).

Penderita Tuberkulosis juga dapat mengalami pembesaran kelenjar getah bening di leher atau di area lainnya, tergantung pada organ yang terinfeksi. Gejala ini dapat muncul sebagai reaksi tubuh terhadap infeksi dan peradangan yang terjadi. Pada tahap lanjut, gejala Tuberkulosis paru bisa semakin parah dan menimbulkan komplikasi serius seperti gagal napas, kerusakan organ, atau bahkan kematian. Oleh karena itu, penting untuk mengenali gejala-gejala ini dengan cepat dan mencari pengobatan yang tepat guna mencegah perkembangan penyakit yang lebih parah (Adam, 2020).

B. Tinjauan Umum Tentang *M ycobacterium tuberkulosis*

1. Definisi *Mycobacterium tuberculosis*

Mycobacterium tuberculosis merupakan bakteri yang menyebabkan penyakit tuberkulosis yang dikenal sebagai infeksi paru-paru akan tetapi penyakit tuberkulosis ini dapat juga menyerang bagian

lain dari tubuh selain dari paru-paru yaitu misalnya dari kelenjar getah bening, ginjal dan tulang (Aswi dkk., 2021).

Dinding *Mycobacterium tuberkulosis* sangat kompleks yaitu terdiri dari lemak yang cukup tinggi, asam mikolat adalah penyusun utama dinding sel dari *Mycobacterium tuberkulosis* selain asam mikolat ia juga tersusun atas lilin kompleks, trehalosa dimikolat dan *Mycobacterial sulfolipids* yang berperan dalam proses virulensi. Terdapat juga unsur lain pada dinding sel *Mycobacterium tuberkulosis* yaitu polisakarida. Dengan adanya strukrur dinding sel yang kompleks maka menyebabkan bakteri *Mycobacterium tuberkulosis* bersifat asam. Adapun komponen dari antigen pada dinding sel dan sitoplasma yaitu kompleks lipid, polisakarida dan protein (Susilawati & Larasati, 2019).

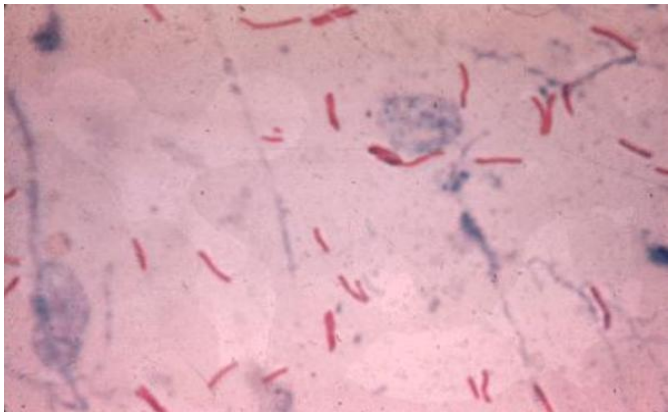
2. Karakteristik *Mycobacterium tuberculosis*

Tuberkulosis didefinisikan sebagai penyakit yang disebabkan oleh infeksi *Mycobacterium tuberculosis*, yang umumnya menyerang paru-paru tetapi berpotensi juga menyerang organ lain. *Mycobacterium tuberculosi*s tidak tergolong bakteri gram positif maupun gram negatif, karena bakteri ini tetap mempertahankan warna pewarna dasar meskipun diolesi alkohol dan iodin. Oleh karena itu, bakteri ini tergolong tahan asam dalam pewarnaan menggunakan metode Zi ehl-Neelsen. Tuberkulosis didefinisikan sebagai penyakit yang disebabkan oleh infeksi *Mycobacterium tuberculosis*, yang umumnya menyerang paru-paru tetapi berpotensi juga menyerang organ lain (Aswi dkk., 2021). *Mycobacterium*

tuberculosis tidak tergolong bakteri gram positif maupun gram negatif, karena bakteri ini tetap mempertahankan warna pewarna dasar meskipun diolesi alkohol dan iodin. Oleh karena itu, bakteri ini tergolong tahan asam dalam pewarnaan menggunakan metode Ziehl-Neelsen (Aswi dkk., 2021).

1) Struktur Bakteri BTA

Mycobacterium tuberculosis mempunyai bentuk batang lurus serta batang bengkok yang mempunyai ukuran 5 mm



Gambar 2.1 Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* pewarnaan BTA batang merah. Sumber: (Nugraha & Setiawan, 2016)

2) Taksonomi *Mycobacterium tuberculosis*

Menurut Ditjen (2018), Taksonomi dari *Mycobacterium tuberculosis* antara lain :

Kingdom : *Bacteria*

Filum : *Actinobacteria*

Ordo : *Actinomycetales*

Sub Ordo : *Corynebacterineae*

Famili : *Mycobacteriaceae*

Genus : *Mycobacterium*

Spesies : *Mycobacterium tuberculosis*

Mycobacterium tuberculosis ialah bakteri berbentuk batang yang dapat berbentuk lurus atau melengkung, berukuran panjang 1-4 μ dan lebar 0,2-08 μ. *Mycobacterium tuberculosis* mempunyai kemampuan untuk hidup sendiri atau berkelompok. *Mycobacterium tuberculosis* mempunyai karakteristik sebagai aerob obligat dan tumbuh subur di jaringan dengan kadar oksigen yang cukup, seperti paru-paru. Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* mempunyai laju pertumbuhan yang lambat, membutuhkan waktu 12-18 jam untuk menyelesaikan satu generasi (Radji, 2020).

C. Tinjauan Umum Diagnosis tuberkulosis

1. Pemeriksaan Mikroskop Basil Tahan Asam (BTA)

Pemriksaan sputum secara langsung dipakai untuk mendiagnosis TB paru dalam penanganannya. Diagnosis paru standar di lingkungan klinis, rumah sakit, dan pusat kesehatan melibatkan diagnosis bakteriologis menggunakan teknik mikroskopis untuk menganalisis BTA dalam sampel apusan dahak. Metode mikroskopis BTA dapat diselesaikan dengan cepat. Pemriksaan bakteriologis ialah pemriksaan laboratorium yang membantu dalam mendiagnosis dan memprediksi temuan pengobatan. Temuan pemriksaan yang rinci, tepat, dan cepat diperlukan untuk mendapatkan diagnosis yang akurat (Ralenawati & Rahmaniatı, 2020).

Untuk mengidentifikasi bakteri dengan melihat morfologi atau bentuknya memerlukan suatu pewarnaan yang menggunakan zat-zat warna yang telah ditentukan sebelumnya. Zat warna yang umum dan banyak digunakan yaitu zat warna *carbol fuchsin*, dan *methien blue*. Pemeriksaan mikrobiologi yang umum digunakan sebagai diagnosis awal Tuberkulosis yaitu dengan pemeriksaan sputum dengan menggunakan metode *ziehl neelsen*. Pemeriksaan mikroskopis sputum merupakan pemeriksaan yang paling mudah, murah, efisien, spesifik dan dapat dilakukan di semua unit laboratorium kesehatan (Ralenawati & Rahmaniatı, 2020).

Pemeriksaan BTA menggunakan pewarnaan *ziehl neelsen*, pewarnaan ini dapat memilah kelompok *Mycobacterium tuberculosis*. Kelompok bakteri ini disebut sebagai bakteri tahan asam karena dapat mempertahankan zat warna pertama (carbol fuchsin) sewaktu dicuci dengan larutan pemucat (asam alkohol). Bakteri yang tahan terhadap larutan asam akan terlihat berwarna merah, sedangkan bakteri yang tidak tahan asam, sel bakteri tidak akan berwarna merah karena pemberian larutan pemucat (asam alkohol) akan melakukan reaksi dengan *carbol fuchsin* dengan cepat, sehingga sel bakteri tidak berwarna (Rahmawati & Rahmaniati, 2020).

Tujuan pemberian *carbol fuchsın* 0,3% adalah untuk mewarnai seluruh sel bakteri. Tujuan pemberian asam alkohol 3% yaitu dapat melunturkan warna dari *carbol fuchsin*, tetapi pada golongan BTA tidak ada pengaruh antara pemberian asam alkohol 3% karena bakteri BTA

memiliki lapisan lipid saya sangat tebal sehingga larutan alkohol sulit menembus dinding sel bakteri tersebut dan warna merah dari carbol fuchsin tidak akan hilang. Tujuan pemberian *methylene blue* adalah untuk memberikan warna pada latar belakang sedangkan perlakuan membilas dengan akuades bertujuan untuk menutup kembali lemak pada bakteri (Rahmawati & Rahmaniati, 2020).

2. Pemeriksaan Kultur

Salah satu media selektif yang digunakan dalam mendiagnosis bakteri secara kultur yaitu *Lowenstein Jensen* (LJ) untuk menumbuhkan bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Media ini merupakan media sintetis yang mengandung telur dan diperkaya dengan gliserol yang dapat menyuburkan pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* serta asparagin (Armah dkk., 2023).

Media LJ digunakan untuk diagnosis infeksi *Mycobacterium*, uji kerentanan antibiotik terhadap isolat, membedakan perbedaan spesies *Mycobacterium* (berupa morfologi koloni, kecepatan pertumbuhan, karakteristik biokimia, dan mikroskopis). Dalam mendeteksi Mycobacterium tuberculosis metode kultur tetap menjadi gold standard. Namun, media LJ yang umum digunakan untuk pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* ini memiliki harga yang relatif mahal dan memiliki masa pertumbuhan yang cukup lama hingga 8 minggu (Armah dkk., 2023).

3. Pemeriksaan *Tuberculin Skin Test* (TST)

Tuberculin skin test (TST) banyak digunakan untuk mendeteksi penderita TB aktif, untuk mengetahui prevalensi TB di masyarakat dan untuk mengetahui penderita yang peka atau high risk terhadap vaksin BCG. *Tuberculin skin test* (TST) dan Induksi antigen spesifik ex vivo terhadap produksi interferon gamma (IFN-γ) telah digunakan untuk mendeteksi adanya infeksi MTB. Selain itu, berbagai jenis tes serologis untuk deteksi antibodi pada individu yang dicurigai terinfeksi MTB juga banyak digunakan untuk mendeteksi TB aktif (Buchari, 2019)

Test *tuberculin* merupakan metode yang sangat mendukung dalam diagnosis tuberkulosis secara awal karena test tuberculin memiliki sensivitas dan spesifisitas yang tinggi sehingga dapat digunakan sebagai uji tapis dan menunjang diagnosa tuberkulosis anak. Berdasar hasil test tuberculin kita dapat mengetahui tingkat infeksi tuberkulosis. Test tuberculin positif dapat ditemui pada keadaan sebagai berikut, infeksi tuberkulosis alamiah (infeksi tuberkulosis tanpa sakit, infeksi tuberkulosis dan sakit tuberkulosis, pasca pengobatan tuberkulosis), imunisasi BCG (infeksi tuberkulosis buatan), infeksi *Mycobacterium* atipic atau *Mycobacterium Leprae.* Test *tuberculin* negatif dapat ditemui pada keadaan sebagai berikut, penyuntikan yang salah, tidak ada infeksi tuberkulosis, dalam masa inkubasi infeksi tuberkulosis dan anergi (anergi adalah keadaan penekanan sistem imun oleh berbagai keadaan sehingga

tubuh tidak memberikan reaksi terhadap test tuberculin padahal sebenarnya sudah terinfeksi tuberkulosis) (Triharinni & Isfandiari, 2014)

4. Pemeriksaan IGRA

IGRA adalah tes darah in vitro dari respon imun yang dimediasi sel dengan mengukur pelepasan sel-T dari IFN- $\boldsymbol{\gamma}$ yang distimulasi oleh antigen khusus untuk *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (dengan pengecualian substrains BCG), yaitu, antigen awal yang diawali target-6 (ESAT-6) dan kultur filtrat protein-10 (CFP-10). Antigen-antigen ini dikodekan oleh gen-gen yang terletak di dalam *region of difference* 1(RD1) lokus genom *M. tuberculosis*. Mereka lebih spesifik daripada PPD untuk *Mycobacterium tuberculosis* karena mereka tidak dikodekan dalam genom dari setiap strain vaksin BCG atau sebagian besar spesies NTM, selain *M. marinum, M. kansasii, M. szulgai,* dan *M.flavescens* . Namun, tidak semua NTM telah dipelajari untuk reaktivitas silang. Ada beberapa bukti reaktivitas silang antara ESAT-6 dan CFP-10 *M. tuberculosis* dan *M.leprae*, tetapi signifikansi klinis ini dalam pengaturan di mana kusta dan TB adalah endemik (misalnya, India dan Brasil) tidak dapat dikarakteristikan dengan baik (Citra, 2020).

Pemeriksaan ini dilakukan dengan cara, darah distimulasi dengan antigen spesifik MTB, yang dihapus dari genom *M. bovis* BCG dan dimana tidak ada seperti kebanyakan mikobakteri lingkungan. TST didasarkan pada infiltrasi kulit yang disebabkan oleh injeksi intradermal dari derivatif protein murni (PPD), yang merupakan campuran mentah dari

antigen yang banyak yang dimiliki oleh *Mtb, M. bovis,* BCG dan beberapa spesies mikobakteri lingkungan. Manfaat khusus dari pengujian in-vitro adalah ada tes laboratorium dengan kontrol negatif dan positif, dan satu kunjungan sudah mencukupi. Berbeda dengan TST, tes in vitro ini dapat membedakan respons negatif yang sesungguhnya dari energi (Citra, 2020).

5. Pemeriksaan ELISA

Teknik ini merupakan salah satu uji serologi yang dapat mendeteksi respon humoral berupa proses antigen-antibodi yang terjadi yang memiliki sensitivitas dan spesivitas yang tinggi dengan berlabel enzim sebagai penanda reaksi. ELISA memiliki 4 teknik yaitu: direct, indirect, sanwich dan competitive ELISA. Ada bebearpa metode prinsip uji ini yang dapat untuk mendeteksi Ag atau antibodi dengan solid phase. Prinsip dari pemeriksaan ELISA adalah reaksi antigen-antibodi (Ag-Ab) dimana setelah penambahan konjugat, yaitu antigen atau antibodi yang dilabel enzim dan substrat, akan terjadi perubahan warna. Perubahan warna ini yang akan diukur intensitasnya dengan alat pembaca yang disebut spektrofotometer atau ELISA reader dengan menggunakan panjang gelombang tertentu. Pemeriksaan ELISA untuk mendeteksi *antimicrobial superoxide dismutase antibody* digunakan untuk serodiagnosis *TB. Superoxide* dismutase merupakan secretory protein dari MTB (Buchari, 2019).

6. Pemeriksaan Tes Cepat Molekuler (TCM)

TCM merupakan metode deteksi terbaru yang menggunakan alat geneXpert untuk mendiagnosis tuberkulosis berdasarkan pemeriksaan molekuler yang menggunakan metode *Real Time Polymerase Chain Reaction Assay* (RT- PCR) semi kuantitatif yang menargetkan wilayah hotspot gen rpoB pada *Mycobacterium tuberculosis*, dan secara otomatis terintegrasi mengolah sediaan dengan ekstraksi *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA) dalam cartridge sekali pakai. Penelitian invitro menunjukkan batas deteksi bakteri tuberkulosis dengan metode RT-PCR GeneXpert minimal 131 bakteri/ml sputum (Fajrunni'mah, 2020).

7. Pemeriksaan PCR *(Polymerase Chain Reaction)*

Pemeriksaan dengan metode PCR *(Polymerase Chain Reaction)* deteksi bakteri tuberkulosis dengan menggunakan teknik PCR mempunyai sensitivitas yang amat tinggi. Metode PCR merupakan metode yang bekerja dengan cara amplifikasi DNA, dalam hal ini DNA *Mycobacterium tuberculosis* secara invitro (Anggraeni dkk., 2024)

D. Tinajuan Umum Metode Tes Cepat Molekuler (TCM)

1. Definisi Tes Cepat Molekuler (TCM)

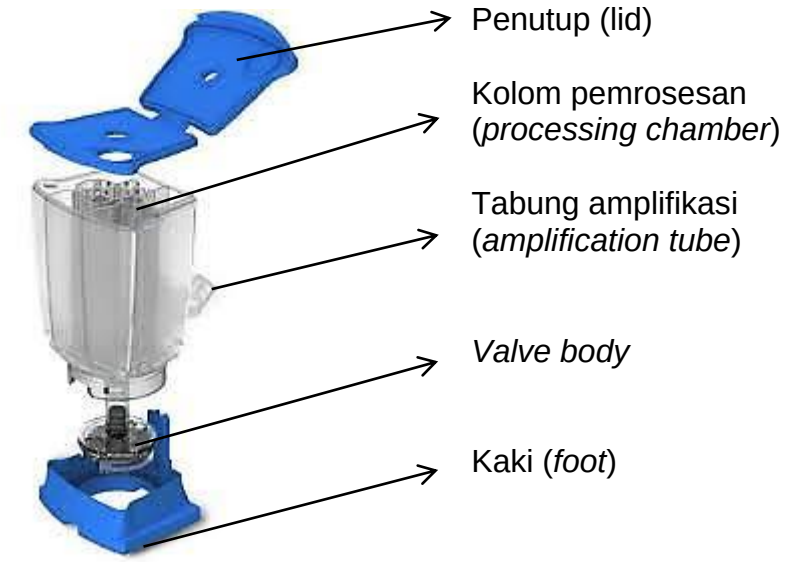
Tes Cepat Molekuler merupakan metode penemuan terbaru untuk diagnosis TB berdasarkan pemeriksaan molekuler yang menggunakan metode *Real Time Polymerase Chain Reaction Assay* (RT-PCR) semi kuantitatif yang menargetkan wilayah hotspot gen rpoB pada *Mycobacterium tuberculosis*, yang terintegrasi dan secara otomatis

mengola sediaan dengan ekstraksi deoxyribo nucleic acid (DNA) dalam cartridge sekali pakai (Naim & Utami, 2018).

Pemanfaatan penggunaan alat tes cepat GeneXpert di tunjukan diagnosis terduga TB resisten obat (Manajemen Terpadu Pengendalian TB Resisten Obat/MTPTRO), TB/HIV, dan selanjutnya akan d kembangkan untuk diagnosis TB baru pada anak, TB diabetes mellitus, TB ekstra paru, serta diagnosis pada terduga TB hasil BTA negatif. Metode tes cepat molekuler terus di kembangkan dan akan dilakukan untuk diagnosis tuberculosis di masa yang akan datang sehingga perlu di lakukan uji performa tercepat molekuler ini khususnya di balai besar kesehatan paru masyarakat (Naim & Utami, 2018).

2. Prinsip GeneXpert MTB/RIF

Bakteri dalam sputum dilisiskan dan DNA bakteri diisolasi. Fragmen DNA spesifik *Mycobacterium tuberculosis* diamplifikasi jutaan kali dengan *Real Time Polymerase Chain Reaction*.. Primer PCR yang digunakan mampu mengamplifikasi sekitar 81 bp daerah inti gen rpoB MTB kompleks, sedangkan probe dirancang untuk membedakan sekuen wild type dan mutasi pada daerah inti yang berhubungan dengan resistansi terhadap rifampisin. (Naim & Utami, 2018).



Gambar 2.2 Katrid Xpert MTB/RIF
Sumber : Kementrian Kesehatan Republik Indonesia

3. Kelebihan dan kekurangan Tes Cepat Molekuler (TCM)

Tes Cepat Molekuler (TCM) mempunyai kelebihan yaitu dapat mengidentifikasi *Mycobacterium tuberculosis* dengan cepat dan juga dapat mengindentifikasi resistensi obat Rimfampisin, (Amalia, 2017). Sedangkan TCM juga mempunyai kelemahan yaitu tidak dapat mendeteksi sampel sputum bercampur darah dan sisa-sisa makanan, karena pada darah dan sisa-sisa makanan mengandung banyak protein sehingga DNA sulit pecah dan menyebabkan sampel eror atau tidak mengeluarkan hasil, pada pencampuran reagen yang salah juga menyebabkan hasil salah (Gidado dkk., 2018).



Gambar 2.3 Alat GeneXpert
Sumber : (*World Health Organization* 2019)

4. Prosedur Pemakaian GeneXpert MTB/RIF

Pemakaian GeneXpert MTB/RIF secara manual sangat mudah buffer ditambahkan pada sampel sputum dengan perbandingan volume yang telah ditentukan, dimasukkan sampel ke dalam catridge chamber kemudian catridge dimasukkan ke dalam GeneXpert MTB/RIF. Setelah itu, semua proses yang terjadi adalah secara automatis: GeneXpert MTB/RIF pada awalnya menangkap organisme Mycobacterium tuberculosis dari sampel sputum pada filter membran (Susanty dkk., 2019).

Inhibitor mencuci sel organisme yang ditangkap dengan buffer kemudian dilisiskan dengan sumber energi ultrasonik dan DNA yang terlepas dielusi (dialirkan) melalui saringan membran. Solusi DNA akhirnya dicampur dengan reagen PCR kering kemudian dipindahkan dalam tabung PCR untuk real-time PCR dan dideteksi. Hasilnya dapat dapat diketahui dalam waktu kurang lebih 2 jam. Adanya semua lima

sinyal fluoresensi menunjukkan rifampisin sensitif terhadap DNA *Mycobacterium tuberculosis*. Jika 2-<5 sinyal fluoresensi diindikasikan bahwa *Mycobacterium tuberculosis* resisten rifampisin Jika sinyal fluoresensi tidak ada atau hanya 1 mengindikasikan tidak adanya DNA *Mycobacterium tuberculosis* (Susanty dkk, 2019).

5. Interpretasi Hasil GeneXpert MTB/RIF menurut (Naim & Utami, 2018).

1) MTB *Not Detected*: Tidak terdeteksi MTB
2) MTB *Detected (Very Low, Low, Medium, High)*: Terdeteksi MTB
3) RIF *Resistance Not Detected:* Resistensi RIF tidak terdeteksi
4) RIF *Resistance Detected*: Resistensi RIF terdeteksi

E. Tinjuan Umum Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

1. Definisi PCR *(Polymerase Chain Reaction)*

PCR *(Polymerase Chain Reaction)* merupakan suatu metode in vitro untuk menghasilkan sejumlah besar fragmen DNA spesifik dengan panjang dan sekuens yang telah ditentukan dari sebagian kecil templete kompleks. PCR didasarkan pada amplifikasi enzimatik fragmen DNA dengan menggunakan dua oligonukleotida primer yang komplementer dengan ujung 5 dari kedua rantai sekuens target. Oligonukleotida tersebut digunakan sebagai primer untuk memungkinkan DNA template dikopi oleh DNA polymerase (Salsabila dkk., 2021)

Teknik analisis PCR *(Polymerase Chain Reactin)* merupakan teknik yang paling umum digunakan di dunia. Teknik ini biasa digunakan untuk deteksi penyakit, komputasi DNA, diagnosis penyakit maupun analisis spesifik lainnya. PCR *(Polymerase Chain Reactin)* merupakan suatu metode in vitro untuk menghasilkan sejumlah besar fragmen DNA spesifik dengan panjang dan sekuens yang telah ditentukan dari sebagian kecil template kompleks. PCR didasarkan pada amplifikasi enzimatik fragmen DNA dengan menggunakan dua oligonukleotida primer yang komplementer dengan ujung 5 dari kedua rantai sekuens target. Oligonukleotida tersebut digunakan sebagai primer untuk memungkinkan DNA template dikopi oleh DNA polymerase (Salsabila dkk., 2021)



Gambar 2.4 *Polymerase Chain Reaction* (PCR)
Sumber: (*Center For Disease Control* 2017)

2. Prinsip *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Prinsip kerja PCR didasarkan pada kemampuan enzim DNA polimerase untuk mensintesis untai DNA baru yang merupakan komplementer dari DNA cetakan. Komponen utama reaksi PCR terdiri

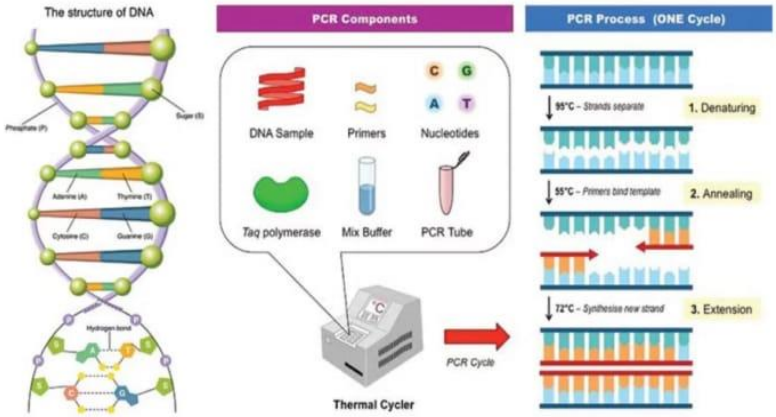
dari: template DNA atau DNA cetakan; primer yang didesain; enzim DNA polimerase; dan nukleotida (dNTP atau *deoxynucleoside triphosphate)* (Purwakasih & Achyar, 2021)

3. Komponen PCR *(Polymerase Chain Reaction)*

Menurut Widyanto dkk., (2021), komponen atau bahan utama dalam proses PCR adalah:

1) Sampel DNA (template DNA), DNA template yang dibutuhkan tidak dalam jumlah besar. Standar konsentrasi DNA template berkisar antara 1 pg-10 ng dalam 50 µL reaksi.
2) Primer forward dan primer reverse, dalam proses PCR terdapat dua primer yaitu primer maju (forward) dan primer mundur (reverse). Primer yang digunakan sebaiknya 18-25 nukleotida, mempunyai GC berkisar antara 40-60% dengan berakhir untuk 3' nya pada nukleotida G atau C.
3) dNTPs (Deoxynucleotide triphosphates), dNTPs terdiri dari (A,T,G,C) yang akan digunakan untuk proses sintesis perpanjangan rantai DNA.
4) Enzim polimerase DNA (Taq. KOD, dan lain-lain), untuk memulai inisiasi pembentukan rantai DNA maka digunakan enzim polimerase. Umumnya enzim ini menggunakan Taq polimerase yang berasal dari bakteri Thermuc aquaticus dan KOD polimerase yang berasal dari bakteri Thermococcus kodakaraensis.

5) Buffer PCR, magnesium klorida (MgCl), umumnya buffer dan MgCl digunakan untuk membantu reaksi enzim, dimana MgCl seringkali bertindak sebagai kofaktor proses reaksi enzim.



Gambar 2.5 Komponen Dan tahapan PCR
Sumber: (*Centers For Disease Control* 2017)

4. **Tahapan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)**

Teknik PCR melibatkan suatu reaksi yang berantai dan setiap siklusnya terdiri atas 3 tahapan yang membutuhkan suhu yang berbeda-beda, tahapan tersebut yaitu Tahap denaturasi cetakan DNA (template denaturation) pada suhu 95 °C. Tahap ini adalah tahap dimana terjadi pemisahan DNA utas ganda menjadi utas tunggal. Hal ini dapat terjadi karena pada suhu tersebut ikatan hidrogen antarbasa pada DNA akan putus dan terbentuklah DNA utas tunggal (Widyanto dkk., 2021).

Tahap penempelan primer (primer annealing) pada suhsu 64 °C. Pada suhu ini primer oligonukleotida akan menempel pada cetakan DNA atau DNA template dan membentuk formasi DNA utas ganda yang dibutuhkan oleh enzim DNA polimerase untuk memulai pemanjangan rantai DNA yang

baru.Tahap pemanjangan atau polimerisasi (extension of annealed primer) pada suhu 72 °C. Suhu ini menjadi suhu yang optimum bagi kerja enzim Taq polimerase. Enzim DNA polimerase akan melakukan penambahan nukleotida pada primer sehingga akan terbentuk utas kedua yang komplemen terhadap utas cetakan (Widyanto dkk., 2021).

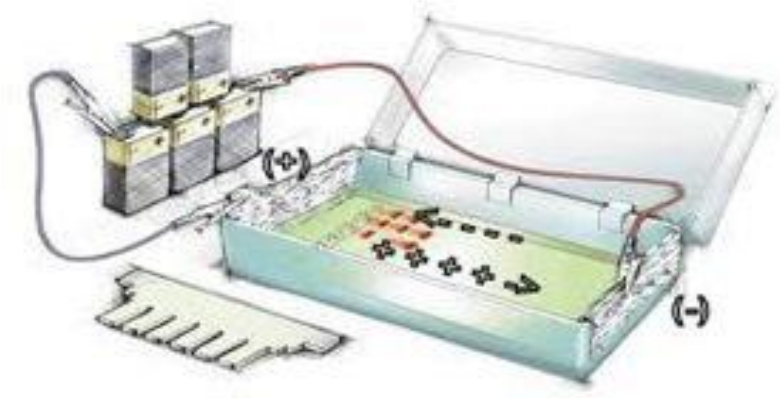
Ketiga tahap PCR ini dapat diulang terus menerus sebanyak 25-40 siklus pada mesin PCR sehingga dapat diperoleh jumlah DNA yang berlipat ganda. Peningkatan jumlah DNA target secara teori terjadi secara eksponensial dengan perhitungan tiap siklusnya berkisar dua menit akan selesai menggandakan DNA. Sehingga dapat diperkirakan jika dalam suatu reaksi PCR dilakukan sebanyak 20 siklus maka hasil amplifikasi DNA yang diperoleh mencapai 1 juta copy (Widyanto dkk., 2021).

1. Elektroforesis

Elektroforesis DNA agarosa ialah teknik pemisahan molekul DNA dan biasanya digunakan selama teknik manipulasi DNA atau studi identifikasi yang melibatkan individu berdasarkan sekuens DNA yang unik. DNA adalah asam organik yang bermuatan negatif. Ketika DNA dipaparkan pada suatu medan listrik maka partikel akan bermigrasi ke arah elektroda positif. Molekul yang memiliki ukuran kecil akan bergerak lebih cepat dari pada molekul yang berukuran besar (Widyanto dkk., 2021).

Elektroforesis gel agarose digunakan untuk memisahkan fragmen DNA berdasarkan ukuran fragmennya dengan memanfaatkan kemampuan dari migrasi DNA yang disebabkan oleh muatan listrik sampel (charge).

Sampel DNA dimasukkan ke dalam sumur sampel. Penerapan arus listrik pada ujung atas (anoda, negatif) dapat menyebabkan DNA yang bermuatan negatif untuk bermigrasi (elektroforesis) ke ujung bawah (katoda, positif). Tingkat migrasi sebanding dengan ukuran fragmen, dimana fragmen yang berukuran kecil akan bergerak lebih cepat ke bagian bawah gel (Prihanto & Abdul, 2019).

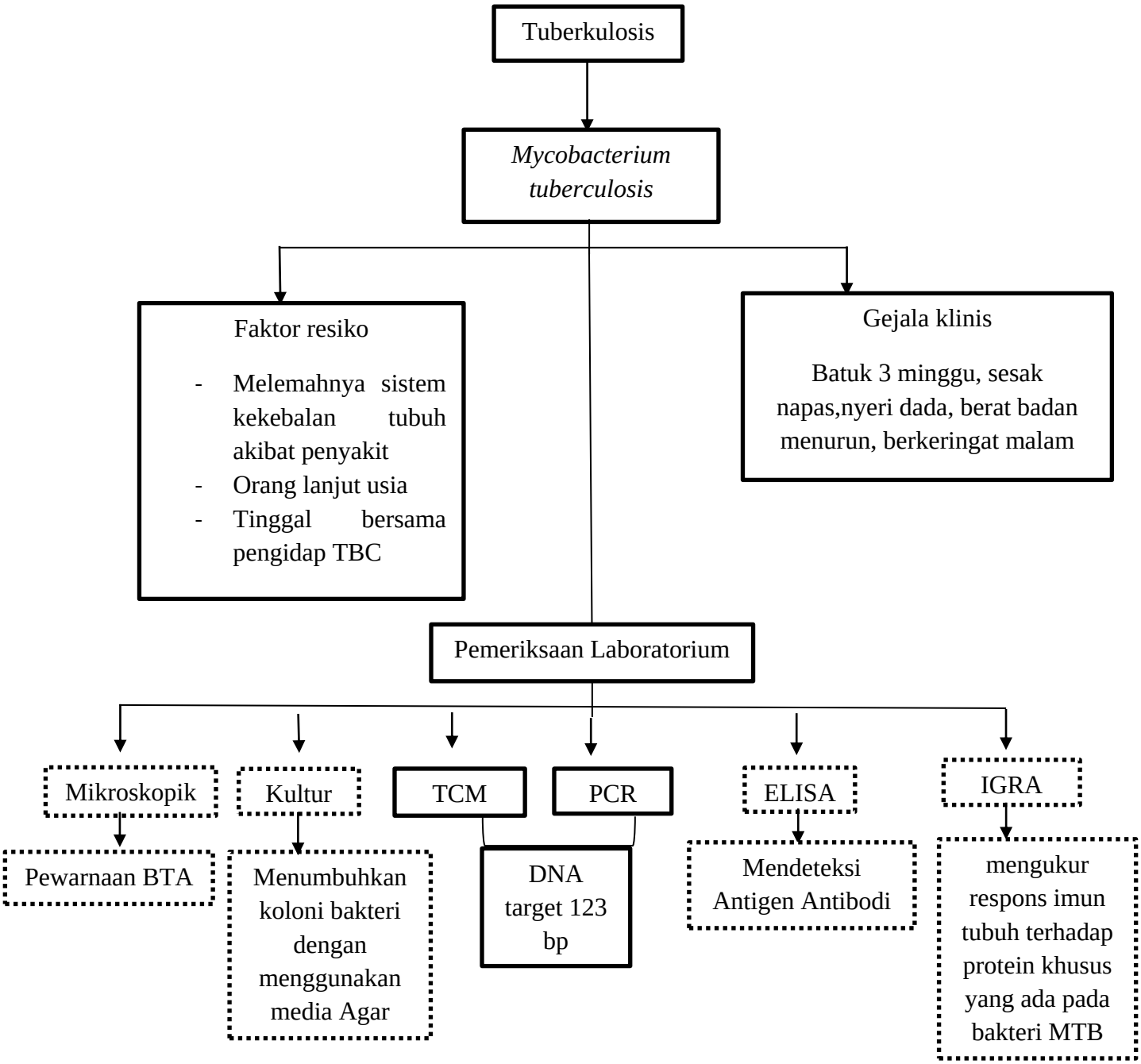


Gambar 2.6 Serangkaian Alat Elektroforesis
Sumber : (Muhamad Ridwan 2018)

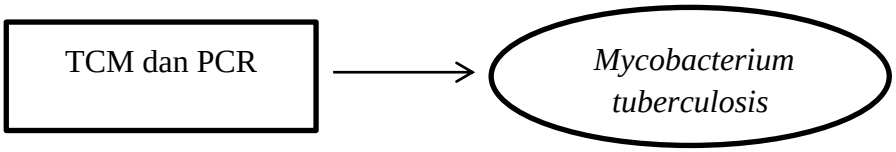
Teknik ini memerlukan gel matriks agar DNA bisa bermigrasi menuju elektroda positif. Matriks tersebut dibuat dari agarosa yang dilarutkan ke dalam larutan penyangga. Ketika gel padat, gel agarosa akan membentuk pori-pori vang berfungsi agar DNA dapat bergerak di dalamnya. Pada kondisi yang netral atau posisi pH basa, grup PO, dari DNA akan diionisasi sehingga DNA dapat bergerak ke arah anoda (Widyanto dkk., 2021).

DNA akan divisualisasikan dengan memasukkan gel ke dalam pewarna EtBr. Fragmen DNA akan mengambil pewarna pada saat bermigrasi melalui gel. Pewarna EtBr akan berpendar dengan warna pink pucat yang disebabkan oleh iluminasi sinar ultraviolet. DNA ladder atau standar DNA biasanya diletakkan pada bagian paling kanan atau paling kiri yang berfungsi sebagai standar untuk mengetahui ukuran pita-pita DNA yang dianalisis (Prihanto & Abdul, 2019)

F. Kerangka Teori



G. Kerangka Konsep



1. Variable Bebas (Independen)

   Variabel terikat atau variabel dependen dalam penelitian ini yaitu *Mycobacterium tuberculosis*

2. Variabel terikat (Dependen)

   Variabel bebas atau variabel independen dalam penelitian ini yaitu metode TCM dan PCR

H. Definisi Operasional

1. *Mycobacterium tuberculosis* adalah hasil positif BTA yang disebabkan dari penyakit tuberkulosis yang menyerang paru-paru
2. Tes Cepat Molekuker (TCM) adalah metode diagnostik berbasis teknologi molekuler untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* dan resistensi terhadap obat
3. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah teknik amplifikasi secara in-vitro untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* berdasarkan keberadaan DNA

BAB III
METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan observasi laboratorium dengan desain penelitian *Cross-sectional study* untuk membandingkan hasil pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) dengan metode Tes Cepat Molekuler (TCM) dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

B. Waktu dan Lokasi Penelitian

1. Lokasi

   Lokasi pengambilan sampel di Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat (BBKPM) Penelitian ini dilakukan di dua tempat di Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat (BBKPM) dan Hasanuddin *University Medical Research Center* Makassar (HUM-RC)

2. Waktu

   Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei-Juni 2025

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

   Populasi dalam penelitian ini adalah pasien yang positif tuberkulosis yang ada di Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat (BBKPM)

2. Sampel

   Sampel pada penelitian ini adalah sputum positif tuberkulosis yang ada di Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat (BBKPM)

3. Teknik Sampling

Sampel ditentukan dengan *Accidental sampling* yang merupakan teknik penentuan sampel yang sudah tersedia dan sesuai dengan kriteria inklusi.

D. Kriteria Sampel

a. Kriteria Inklusi

Pasien yang telah didiagnosis dengan tuberkulosis berdasarkan hasil positif BTA

b. Kriteria Ekslusi

Sputum yang sudah lama disimpan

E. Alat Dan Bahan

1. Alat

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *GeneXpert (Cepheid), coolbox*, mikropipet Bio-rad (100-1000 µL, 20-200 µL, 1-20 µL, 0,5-10 µL), rak tabung *PCR-cooler,* cetakan agarosa dan sisir, sendok tanduk, neraca analitik, vortex (profuge 6k), incubator (Titramax-1000), mesin *centrifuge, Thermal Cycler*, *spin column*, gelas ukur, *microwave, Chamber* elektroforesis (Bio- Rad), botol schott duran, biohazard (safety cabinet), dan perangkat Bio-rad Gel Doc.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu: sampel sputum, cartridge, Sampel reagen TCM, pot sampel, tabung eppendorf, tabung spin column,filter tip (1000 µL, 200 µL, 20 µL), Kit Ekstraksi,ethanol absolute, Phospat Buffer Salin (PBS), enzim Kappa DNA polymerase, *forward*

primer (5’-CCT GCG AGC GTA GGC GTC GG -3) 2 µL *reverse primer* (5'-CTC GTC CAG CGC CGC TTC GG-3) 2 µL, *nuclease free water* (NFW) atau ddH_2 O, template DNA, bubuk gel agarose, Tris Barate EDTA (TBE) 0,5%, *ethidium bromide* (GelRed), marker 100 bp DNA *Ladder, ice pack gel.*

F. Prosedur Kerja Penelitian

1. Pemeriksaan Metode Tes Cepat Molekuler (TCM)

Sampel sputum dipindahkan dari pot, lalu kemudian dicampurkan sampel dengan buffer sebanyak 2:2/ml lalu dihomogenkan, kemudian inkubasi disuhu ruang selama 10 menit, selanjutnya dipipet 2 ml sampel kedalam cartrige, lalu kemudian discan berkode cartridge, masukkan data pasien di alat GeneXpert kemudian masukkan cartridge kedalam alat GeneXpert. Selanjutnya ditunggu hasilnya selama kurang lebih 1 jam 30 menit.

2. Pemeriksaan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

a. Ekstraksi DNA

Ekstraksi pada penelitian ini menggunakan metode spin column. Dimana tahap pertama yaitu proses lysis. Dipindahkan sampel sputum kedalam *Microsentrifuge Tube* steril 1,5 ml sebanyak 200 µL, selanjutnya ditambahkan 20 µL proteinase K lalu dihomogenkan dengan cara dipipetting. Kemudian inkubasi menggunakan inkubator pada suhu 60 °C selama 5 menit . Selanjutnya, tambahkan 200 µL etanol 100% dan vortex

selama 10 detik setelah itu ditambahkan 200 µL buffer GSB dan divortex selama 10 detik pada suhu 60 °C.

Tahap yang kedua yaitu proses peningkatan DNA (DNA *binding*) Semua sampel sputum ditempatkan dalam kolom putar dan disentrifugasi selama satu menit pada kecepatan 14.000 xg. Kemudian dibuang *collection tube* bagian bawah *spin column* lalu dipindahkan ke tube baru yang telah disiapkan.

Tahap selanjutnya yaitu proses pencucian (*Wash*) ditambhkan 400 Prosedur µL *buffer Washing* 1 lalu disentrifus dengan kecepatan 1400 xg atau 12.200 selama 30 detik lalu dibuang endapannya di buang dan tabung kemudian dipasang kembali. Lalu, tambahkan 600 µL *buffer washing* 2, lalu di sentrifus kembali pada kecepatan 14000 xg selama 30 detik, kemudian buang cairan yang ada di *collection tube* dan pasang kembali *collection tube* yang baru. Selanjutnya, disentrifus kembali dengan kecepatan 14000 xg selama 3 menit. Dipasang tabung *eppendorf* dibagian bawah spin column dan disentrifuge dengan kecepatan 14000 xg selama 1 menit. Tahap yang terakhir yaitu penambahan *buffer elution* sebanyak 700 µL kemudian, inkubasi pada suhu ruang lalu centrifuge kembali dengan kecepatan 14000 xg selama 30 detik. Hasil ekstraksi DNA siap digunakan.

b. Amplifikasi DNA

Amplifikasi PCR dilakukan dengan mencampur semua komponen PCR yang terdiri dari *Taq* DNA *polymerase* sebanyak 119, *Primer forward* dan *reverse* masing-masing sebanyak 9,5 µL, 53 µL *Nuclease*

Free Water (ddH20) dicampur. Campuran divortex selama 5 detik, kemudian dipipet kedalam tabung PCR masing-masing sebanyak 5 µL dan 2,5 µL cetakan DNA dipipet ke dalam tabung PCR. Selanjutnya diamplifikasi pada mesin PCR dimana dilakukan sebanyak 35 siklus yang meliputi pra-denaturasi selama 5 menit pada suhu 95 °C dan denaturasi selama 30 detik pada suhu yang sama. Satu siklus terdiri dari pra denaturasi dan denaturasi, annealing selama 30 detik pada suhu 65 °C dan *extention* selama 2 jam pada suhu 72 °C. Ada 35 siklus yang diselesaikan, ekstensi akhir selama 10 menit pada suhu 72 °C. Hasil amplifikasi selanjutnya dilakukan elektroforesis.

c. Elektroforesis

Hasil PCR kemudian dilanjutkan dengan elektroforesis. Dibuat agarosa sebanyak 2 gram dan dilarutkan ke dalam buffer tris borate EDTA (TBE) sebanyak 100 mL kemudian dipanaskan dengan *microwave* selama 3 menit dengan suhu 100 °C setelah itu ditambahkan *Ethidium Bromide* (EtBr) sebanyak 10 µL, lalu homogenkan, kemudian dituang kedalam cetakan gel dengan sisiran yang sudah di pasang pada cetakan. Ditunggu hingga gel mengeras.

Setelah itu gel agarose yang telah mengeras dimasukkan ke dalam chamber elektroforesis, lalu dipipet kontrol negatif kedalam sumur pertama dan kontrol positif pada sumur kedua dan marker pada sumur ketiga, selanjutnya dipipet 10 µL sampel DNA ke dalam setiap sumur hingga sumur kelima belas. Kemudian, dengan menggunakan pengaturan

listrik 100 volt selama 60 menit dan kemudian dijalankan, bilik ditutup sesuai dengan kutub positif dan negatif. Untuk menganalisis pola pita DNA yang dibuat dengan pita target 123 bp, gel agarosa kemudian dikeluarkan dan ditempatkan di dalam UV Reader/Gel Documentation System.

G. Interpretasi Hasil

1) Pemeriksaan metode TCM

   Hasil pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* ditandai dengan munculnya, *MTB Detected High, MTB Detected Medium MTB Detected Low, MTB Detected Very Low*

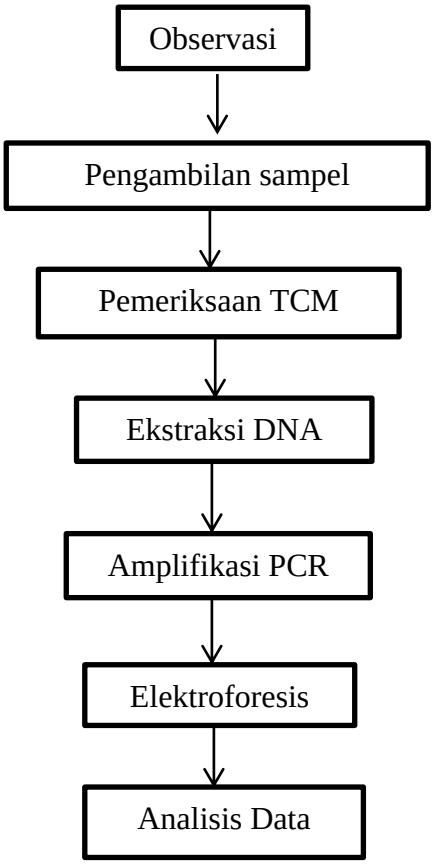
2) Pemeriksaan Metode PCR

   Hasil dinyatakan positif jika ditemukan pita DNA sampel yang memiliki ukuran 123 bp (Deshapande dkk., 2007).

H. Analisis Data

Data hasil uji disajikan dalam bentuk tabel menggunakan pendekatan secara deskriptif dengan menyajikan data dalam bentuk gambar dan tabel

I. Alur Penelitian



I. Teknik Pengumpulan Data

1. Data Primer

   Data primer didapatkan melalui observasi dan lembar persetujuan yang telah ditandatangani oleh pasien di Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat (BBKPM) dan akan dijadikan sebagai data utama dalam melakukan penelitian

J. Etika Penelitian

Penelitian ini menggunakan manusia sebagai objek, sehingga dalam pelaksanaanya tidak boleh bertantangan dengan etika penelitian. Etika

penelitian ini diperlukan untuk menghindari terjadinya tindakan yang tidak etis dalam melakukan penelitian, maka dilakukan sebagai berikut:

1. Sebelum melakukan penelitian, maka peneliti akan meminta izin pada pihak di Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat (BBKPM)
2. Setiap subjek akan dijamin kerahasiaanya atas data yang diperoleh dari hasil tes dengan tidak menuliskan nama pasien, tetapi hanya berupa kode sampel
3. Peneliti menjaga kerahasiaan *(Confidentiality)*, dalam hal ini semua menggunakan insial dan hanya digunakan untuk penelitian serta penyajiaan hanya dalam forum akademik.
4. Keadilan dan inkusivitas *(Respect For Justice And Inclusiviness)* penelitian dilakukan secara jujur, hati-hat dan profesional

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan sampel sputum pasien TB yang ada di Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat (BBKPM). Sebanyak 15 sampel yang diperoleh berdasarkan kriteria inklusi kemudian dilakukan pemeriksaan Tes Cepat Molekuler (TCM) di Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat (BBKPM). Kemudian pemeriksaan dilanjutkan ke Laboratorium Biologi Molekuler Hasanuddin *University Medical Research Center* (HUMRC) untuk mendeteksi DNA *Mycobacterium tuberculosis* dengan target band pita 123 *bp* menggunakan metode *Polymerase Chain reaction* (PCR).

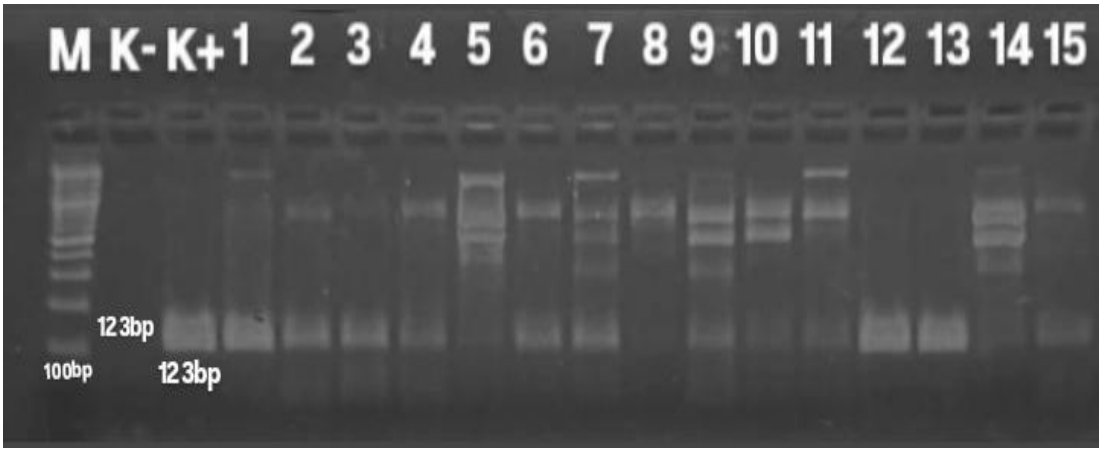
Tabel 4.1 Distribusi Berdasarkan Karakteristik Penelitian

Karakteristik	Frekuensi	Persentase %
1. Usia		
10-30 tahun	4	26,67%
30-50 tahun	4	26,67%
50-70 tahun	7	46,67%
Total	15	100%
2. Jenis Kelamin		
Perempuan	9	60%
Laki-laki	6	40%
Total	15	100%

Data Primer, 2025

Hasil berdasarkan pada karakteristik penelitian berdasarkan usia responden, diketahui bahwa responden yang berusia 13-22 tahun berjumlah 4 orang dengan presentase 26,67%, responden yang berusia 37-45 tahun berjumlah 4 orang dengan presentase 26,67%, dan responden yang berusia 50-68 tahun berjumlah 7 orang dengan presentase 46,67% sedangkan karakteristik penelitian

berdasrkan jenis kelamin responden, diketahui bahwa responden yang berjenis kelamin perempuan 9 orang dengan presentase 60% dan laki-laki berjumlah 6 orang dengan presentase 40%.



Gambar 4.1 Hasil Elektroforesis

Keterangan

M = Marker (Segmen yang spesifik telah diketahui ukurannya
K- = Kontrol Negatif
1-15 = Kode sampel
123bp = DNA target *Mycobacterium tuberculosis*

Berdasarkan hasil dari elektroforesis yang telah di baca menggunakan *Gel-Doc UV Transilluminator*, (Gambar 4.1) menunjukan dari 15 sampel menggunakan sampel sputum pasien TB pada gambar diatas, diketahui bahwa sampel yang positif yaitu sampel dengan kode 1,2,3,4,6,7,9,10,11,12,13,14 dan 15 yang ditandai dengan terlihatnya pita band target 123 bp.

Tabel 4.2 Hasil Pemeriksaan Metode TCM dan PCR

No	Kode Sampel	Hasil TCM	Hasil PCR
1	F1	+	+
2	F2	+	+
3	F3	+	+
4	F4	+	+
5	F5	+	-
6	F6	+	+
7	F7	+	+
8	F8	+	-
9	F9	+	+
10	F10	+	+
11	F11	+	+
12	F12	+	+
13	F13	+	+
14	F14	+	+
15	F15	+	+

Ket :

F1-F15 : Kode sampel

+ : Terdeteksi MTB pada TCM dan PCR

- : Tidak terdeteksi MTB pada TCM dan PCR

Berdasarkan tabel 4.2 tentang hasil pemeriksaan dengan menggunakan metode Tes Cepat Molekuler (TCM) pada sampel sputum pasien TB, diketahui bahwa dari 15 sampel yang diperiksa dengan menggunakan metode Tes Cepat Molekuler (TCM) didapatkan positif 15 sampel . Hasil TCM menunjukkan bahwa terdektsi *Mycobacterium tuberculosis*. Hal ini menandakan bahwa terdapat *Mycobacterium tuberculosis* pada 15 sampel sputum tersebut, sehingga hasil dinyatakan positif.

Berdasarkan tabel 4.2 tentang hasil pemeriksaan dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) pada sampel sputum pasien TB, diketahui bahwa dari 15 sampel yang diperiksa dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) hasil menunjukkan bahwa terdektsi dari 15

sampel terdapat 13 sampel positif yaitu pada kode sampel F1,F2,F3,F4,F5,F6,F7,F9,10,11,12,13,14, dan 15 sedangkan pada kode sampel F5 dan F8 negatif *Mycobacterium tuberculosis*.

Tabel 4.3 Presentase Hasil pemeriksaan TCM dan PCR

Metode	Jumlah (n)	Presentase (%)
TCM		
Positif	15	100%
Negatif	-	-
Total	15	100%
PCR		
Positif	13	86,67%
Negatif	2	13,33%
Total	15	100%

Sumber : Data Primer Juni (2025)

Berdasarkan tabel 4.3 tentang presentase hasil pemeriksaan TCM dan PCR *Mycobacterium tuberculosis* pada sputum pasien TB, dikeathui bahwa dari 15 sampel yang telah diamati menggunakan metode TCM, ditemukan 15 sampel dengan presentase 100% yang positif *Mycobacterium tuberculosis*

Berdasarkan tabel 4.3 tentang presentase hasil pemeriksaan TCM dan PCR *Mycobacterium tuberculosis* pada sputum pasien TB, diketahui bahwa dari 15 sampel yang diperiksa terdapat 13 sampel dengan presentase 86,67% yang positif dan menandakan terdeteksi DNA *Mycobacterium tuberculosis*. Sedangkan 2 sampel lainnya dengan presentase 13,33% negatif yang menandakan tidak terdeteksi DNA *Mycobacterium tuberculosis.*

B. Pembahasan

Penelitian ini dilakukan selama periode bulan Mei - Juni 2025 di Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat (BBKPM) dan di Laboratorium Hasanuddin *University Medical-Research Centre* (HUM-RC), menggunakan 15 sampel sputum pasien TB. Tujuan dari penelitian ini dilakukan untuk mengetahui hasil perbandingan pemeriksaan MTB menggunakan Tes Cepat Molekuler (TCM) dan *Polyemerase Chain Reaction* (PCR).

Tuberkulosis (TBC) merupakan penyakit yang diakibatkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*, Penyakit ini dapat menyebar melalui pembuluh darah sehingga infeksi dapat menyebar ke beberapa sistem organ. Penyakit ini menyebar melalui udara saat individu dengan TB aktif batuk, bersin, atau berbicara, melepaskan droplet yang mengandung bakteri (Zuraida dkk., 2021).

Pada sampel sputum yang telah dikumpulkan kemudian dilakukan pemeriksaan dengan menggunakan metode Tes Cepat Molekuler (TCM) untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis.* Sampel sputum dipindahkan dari pot, lalu kemudian dicampurkan sampel dengan buffer sebanyak 2:2/ml lalu dihomogenkan, kemudian inkubasi disuhu ruang selama 10 menit, selanjutnya dipipet 2 ml sampel kedalam cartrige, lalu kemudian discan berkode cartridge, masukkan data pasien di alat GeneXpert kemudian masukkan cartridge kedalam alat GeneXpert. Selanjutnya ditunggu hasilnya selama kurang lebih 1 jam 30 menit.

Setelah dilakukan pemeriksaan dengan menggunakan Tes Cepat Molekuler (TCM) maka selanjutnya dilanjutkan dengan sampel yang sama untuk

melakukan perbandingan dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction*

Kemudian untuk pemeriksaan berbasis molekuler beberapa tahapan PCR yang dilakukan pada penelitian kali ini yaitu Pada sampel yang telah di kumpulkan akan di lakukan tahapan ekstraksi DNA, Amplifikasi PCR dan terkakhir elektoforesis. Ekstraksi DNA merupakan serangkaian proses untuk memisahkan DNA dari komponen-komponen sel lainnya. Ekstraksi merupakan tahap awal yang paling penting dalam penelitian molekuler. Secara umum proses ekstraksi meliputi penghancuran membran sel menggunakan Sodium Dodesil Sulphate (SDS) / sejenis detergen, penghilangan protein dan RNA menggunakan Proteinase K & RNAse, pengendapan DNA, dan pemanenan DNA. Kualitas DNA yang dihasilkan sangat penting untuk menentukan teknik molekuler selanjutnya, sehingga diperlukan metode ekstraksi yang tepat untuk memperoleh DNA dari berbagai sumber jaringan. Ketepatan metode yang dilakukan sangat. mempengaruhi kualitas DNA yang dihasilkan (Ariyanti & Sianturi, 2019).

Setelah dilakukan tahapan ekstraksi DNA kemudian selanjutnya tahapan amplifikasi DNA menggunakan alat *Polymerase Chain Reaction* (PCR). PCR adalah suatu teknik yang melibatkan beberapa tahap yang berulang (siklus) dan pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah target DNA untai ganda. Untai ganda DNA template (unamplified DNA) dipisahkan dengan denaturasi termal dan kemudian didinginkan hingga mencapai suatu suhu tertentu untuk memberi waktu pada primer menempel (anneal primers) pada daerah tertentu dari target DNA, Proses PCR melibatkan beberapa tahap yaitu: (1) pra-denaturasi DNA (2)

denaturasi DNA (3) penempelan primer (annealing); (4) pemanjangan primer (extension) dan (5) pemantapan (postextension) (Ariyanti & Sianturi, 2019).

Adapun setelah proses PCR selesai di lanjukan ke tahapan elektoforesis. Elektroforesis merupakan suatu metode pemisahan yang memanfaatkan medan listrik yang dihasilkan dari elektroda-elektroda untuk memisahkan senyawa-senyawa yang memiliki muatan berupa kation ataupun anion. Elektroforesis membutuhkan media pemisah berupa fase diam seperti sel agarosa yang tercampur larutan buffer untuk menjaga kondisi keasaman sampel saat proses pemisahan. Alat ini sangat mendukung keterbaruan penelitian khususnya dibidang teknologi rekayasa genetika. Hasilnya akan memberikan rekam jejak berupa pita-pita pemisahan senyawa, Kecepatan gerak molekul tergantung pada nisbah (rasio) muatan terhadap massanya, serta tergantung pula pada bentuk molekulnya. (Harahap, 2018).

Berdasarkan Tabel 4.1, distribusi responden penelitian berdasarkan kelompok usia menunjukkan bahwa sebagian besar responden berada pada rentang usia 50–70 tahun, yaitu sebanyak 7 orang (46,67%). Kelompok usia 10–30 tahun dan 30–50 tahun masing-masing berjumlah 4 orang (26,67%). Distribusi ini menunjukkan bahwa mayoritas kasus dalam penelitian ini terjadi pada kelompok usia yang lebih tua, yang umumnya memiliki risiko lebih tinggi terhadap infeksi *Mycobacterium tuberculosis* akibat penurunan daya tahan tubuh atau adanya penyakit penyerta.

Berdasarkan jenis kelamin, responden perempuan berjumlah 9 orang (60%) dan laki-laki sebanyak 6 orang (40%). Temuan ini menunjukkan bahwa

pada penelitian ini, jumlah kasus pada perempuan lebih tinggi dibandingkan laki-laki, meskipun secara epidemiologis TB sering ditemukan lebih banyak pada laki-laki. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh variasi jumlah sampel, karakteristik populasi penelitian, serta faktor risiko individu.

Berdasarkan tabel 4.2 tentang hasil pemeriksaan dengan menggunakan metode Tes Cepat Molekuler (TCM) pada sampel sputum pasien TB, diketahui bahwa dari 15 sampel yang diperiksa, metode Tes Cepat Molekuler (TCM) menunjukkan hasil terdeteksi *Mycobacterium tuberculosis*. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Rejito, & bintari, 2024) yang menyatakan bahwa tes cepat molekuler (TCM) mampu mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis*, di mana dari 344 pasien yang diperiksa, sebanyak 28% menunjukkan hasil positif. Tingginya tingkat deteksi ini menunjukkan bahwa TCM memiliki sensitivitas yang baik dalam mengidentifikasi keberadaan DNA MTB, bahkan pada sampel dengan beban bakteri rendah.

Keunggulan TCM antara lain adalah kemampuannya memberikan hasil dalam waktu singkat, sistem kerja closed cartridge yang meminimalkan risiko kontaminasi, serta kemampuan mendeteksi sekaligus mutasi gen rpoB yang berkaitan dengan resistensi rifampisin.

Berdasarkan tabel 4.2 tentang hasil pemeriksaan dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) pada sampel sputum pasien TB, diketahui bahwa dari 15 sampel yang diperiksa dengan mmenggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) hasil menunjukkan bahwa dari 15 sampel terdapat hasil positif atau munculnya pita DNA target 123bp dengan kode sampel

F1,F2,F3,F4,F6,F7,F9,F10,F11,F12,F13,F14, dan F15 sedangkan pada kode sampel F5 dan F8 tidak muncul pita DNA target terdektsi *Mycobacterium tuberculosis*.

Berdasarkan hasil pemeriksaan terhadap sampel yang diuji, metode Tes Cepat Molekuler (TCM/GenXpert) berhasil mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* sebanyak 15 kasus positif, sedangkan metode PCR konvensional hanya mendeteksi 13 kasus positif. Hal ini menunjukkan bahwa TCM memiliki tingkat deteksi yang lebih tinggi dibandingkan PCR konvensional.

Perbedaan ini dapat dijelaskan berdasarkan sensitivitas dan spesifisitas dari masing-masing metode. TCM, khususnya GenXpert MTB/RIF, merupakan teknik PCR real-time otomatis, yang telah dioptimalkan untuk mendeteksi gen target spesifik dari MTB dengan tingkat keakuratan yang tinggi, bahkan dalam spesimen dengan beban bakteri rendah. Sistem tertutup dan otomatisasi pada TCM juga mengurangi kemungkinan kesalahan teknis dan kontaminasi silang yang sering terjadi pada metode PCR konvensional yang memerlukan banyak langkah manual.

Perbedaan hasil positif antara Tes Cepat Molekuler (TCM) dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dapat dijelaskan berdasarkan sensitivitas metode yang berbeda akibat prinsip kerja masing-masing. TCM memiliki sensitivitas lebih tinggi karena sistemnya yang terintegrasi dan kemampuannya mendeteksi DNA target dalam jumlah sangat rendah. Deteksi berbasis fluoresensi juga memungkinkan pembacaan langsung saat proses amplifikasi berlangsung, sehingga hasil yang diperoleh lebih akurat dan real-time.

PCR konvensional rentan terhadap degradasi DNA atau kehilangan target akibat proses manual, terutama saat tahap ekstraksi dan pemurnian DNA. Selain itu, keberhasilan amplifikasi sangat bergantung pada suhu annealing dan primer yang digunakan. Produk PCR yang dianalisis melalui elektroforesis juga dapat menghasilkan hasil negatif palsu jika konsentrasi produk terlalu rendah untuk divisualisasikan.

Hasil penelitian ini sejalan dengan temuan dalam jurnal sistematik review dan meta-analisis terbaru yang dilakukan pada kasus TB tulang belakang (Biakto dkk., 2024), yang menyimpulkan bahwa Sensitivitas GenXpert mencapai 92% (rentang 85–96%) Sedangkan PCR konvensional hanya menunjukkan sensitivitas sekitar 83% (67–92%). Hal ini menunjukkan bahwa prinsip kerja TCM yang lebih otomatis dan real-time memberikan keunggulan dalam deteksi dini TB dibandingkan metode PCR konvensional

Dengan demikian, lebih tingginya angka positif pada metode TCM dibandingkan PCR konvensional dalam studi ini mendukung bukti bahwa TCM lebih unggul dalam mendeteksi MTB. Hal ini juga memperkuat rekomendasi penggunaan TCM sebagai metode diagnostik awal, terutama dalam konteks deteksi cepat dan akurat terhadap infeksi tuberkulosis, termasuk di daerah dengan sumber daya terbatas.

Berdasarkan tabel 4.3 tentang hasil pemeriksaan PCR diketahui bahwa dari 15 sampel, terdapat 13 sampel yang menunjukkan hasil positif dan 2 sampel dinyatakan negatif. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya pita pada DNA target dengan ukuran 123 bp. Positf ini terjadi karena baik TCM maupun PCR

sama-sama bertujuan mendeteksi DNA *Mycobacterium tuberculosis* (MTB). TCM (Tes Cepat Molekuler) seperti GeneXpert bekerja dengan prinsip PCR real-time untuk mendeteksi DNA spesifik dari MTB dalam sistem closed cartridge yang meminimalkan risiko kontaminasi. Dengan demikian, apabila TCM menunjukkan hasil positif, berarti DNA MTB berhasil terdeteksi pada sampel.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa metode Tes Cepat Molekuler (TCM) lebih unggul dalam mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* dibandingkan dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Dari total 15 sampel yang diperiksa, metode TCM berhasil mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* sebanyak 15 sampel (100%), sedangkan metode PCR hanya mendeteksi positif sebanyak 13 sampel (86,7%). Hal ini menunjukkan bahwa metode TCM memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan metode PCR dalam mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis*.

B. Saran

Untuk penelitian selanjutnya, disarankan untuk melakukan uji pembanding dengan metode Nested sebagai pembanding terhadap Tes Cepat Molekuler (TCM) dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

DAFTAR PUSTAKA

Adam, L. (2020). Pengetahuan Penderita Tuberkulosis Paru Terhadap Kepatuhan Minum Obat Anti Tuberkulosis. *Jambura Health and Sport Journal*, *2*(1), 12–18. https://doi.org/10.37311/jhsj.v2i1.4560

Ahmad Rejito, Ni Wayan desi bintari, sri idayani. (2024). *Hasil Pemeriksaan Tes Cepat Molekuler (GeneXpert) pasien Suspek Tuberkulosis paru di RSUD Kabupaten Buleleng*. *8*(2), 149–154.

Amalia, Z. (2017). Tuberculosis Menggunakan Genexpert Kota Tangerang Selatan. In *Skripsi*.

Anggraeni, R., Sijid, S. A., & Commeng, A. T. (2024). Deteksi Mycobacterium tuberculosis melalui pemeriksaan tes cepat molekuler (TCM) di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar. *Teknosains: Media Informasi Dan Teknologi*, *18*(1), 57–64.

Arisandi, D., Sugiarti, W., & Islamarida, R. (2023). Karakteristik Penderita Tuberkulosis Paru di Kabupaten Sleman, D.I.Yogyakarta. *Jurnal Formil (Forum Ilmiah) Kesmas Respati*, *8*(1), 64. https://doi.org/10.35842/formil.v8i1.470

Ariyanti, Y., & Sianturi, S. (2019). *Ekstraksi DNA total dari sumber jaringan hewan (Ikan Kerapu) menggunakan metode kit for animal tissue*. *3*(July 2018), 40–45.

Armah, Z., Rafika, R., Rahman, R., Arwin, A., Herdiana, H., & Syafika, N. (2023). Aktivitas Pertumbuhan Mycobacterium Tuberculosis Pada Media Coco Blood Malachite Green Sebagai Alternatif Pengganti Media Lowenstein Jensen. *Jurnal Media Analis Kesehatan*, *14*(1), 43. https://doi.org/10.32382/mak.v14i1.3329

Article, O., Biakto, K. T., Massi, M. N., Usman, M. A., & Arifin, J. (2024). *narra j Diagnostic accuracy of GeneXpert in the diagnosis of spinal tuberculosis : A systematic review and meta-analysis*. 1–11.

Aswi, A., Sukarna, S., & Nurhilaliyah, N. (2021). Pemetaan Kasus Tuberkulosis di Provinsi Sulawesi Selatan Tahun 2020 Menggunakan Model Bayesian Spasial BYM dan Leroux. *Journal of Mathematics Computations and Statistics*, *4*(2), 114. https://doi.org/10.35580/jmathcos.v4i2.32755

Blakemore, R., Story, E., Helb, D., Kop, J. A., Banada, P., Owens, M. R., Chakravorty, S., Jones, M., & Alland, D. (2010). Evaluation of the analytical performance of the Xpert MTB/RIF assay. *Journal of Clinical Microbiology*, *48*(7), 2495–2501. https://doi.org/10.1128/JCM.00128-10

Buchari. (2019). Uji Serologi pada Penderita Tuberkulosis Aktif. *Jurnal Kedokteran Nanggroe Medika*, *2*(4), 18–26.

Citra, E. (2020). Interferon Gamma Release Assay sebagai Diagnosis Infeksi Laten Mycobacterium Tuberculosis Infection. *Medula*, *10*(3), 429–436. https://www.journalofmedula.cpm/index.php/medula/article/download/90/9/91

Fajrunni'mah, R. (2020). Hasil Pemeriksaan Imunokromatografi Coactail Antigen M.Tuberculosis Dan Metode Molekuler Pada Suspek Hiv. *Meditory : The Journal of Medical Laboratory*, *8*(1), 18–26. https://doi.org/10.33992/m.v8i1.1093

Fihiruddin, Ilm, H. F., & Khusuma, A. (2022). Variasi Temperatur Boiling pada Amplifikasi Gen inhA M.tuberculosis Metode PCR. *Jurnal Ilmiah Multi Sciences*, *14*(2), 57–62. https://doi.org/10.30599/jti.v14i2.1661

Gidado, M., Nwokoye, N., Nwadike, P., Ajiboye, P., Eneogu, R., Useni, S., Onazi, J., Lawanson, A., Elom, E., Tubi, A., & Kuye, J. (2018). *Public Health Action*. *I*(1), 2–6.

Harahap, M. R. (2018). Elektroforesis: Analisis Elektronika Terhadap Biokimia Genetika. *CIRCUIT: Jurnal Ilmiah Pendidikan Teknik Elektro*, *2*(1), 21–26. https://doi.org/10.22373/crc.v2i1.3248

Hengki. (2018). *Analisis Data Kualitatif Pendidikan Teologi*. Sekolah Tinggi Theologia Jaffray.

Huh, H. J., Jeong, B. H., Jeon, K., Koh, W. J., Ki, C. S., & Lee, N. Y. (2014). Performance evaluation of the Xpert MTB/RIF assay according to its clinical application. *BMC Infectious Diseases*, *14*(1), 1–6. https://doi.org/10.1186/s12879-014-0589-x

Indrayati, S., Almurdi, Mustika, N., Natrio, Y., & Hasnidahlena. (2024). Uji Sensitivitas Dan Spesifisitas Hasil Pemeriksaan Mikroskopis Sputum Bta Terhadap Tes Cepat Molekuler (Tcm) Pada Suspek Tuberkulosis Paru Di Rsud Bangkinang. *Bioma : Jurnal Biologi Makassar*, *9*(2), 30–38.

Inelvi Y, Yulia B, Heppy S. P, R. A. N. H. (2021). Tuberculosis Suspects At Type D Perawang Hospital In 2022. *Kesehatan Saintika Meditory*, *7*(1), 250–255.

Jasaputra, D. K., Onggowidjaja, P., & Soeng, S. (2010). Akurasi deteksi Mycobacterium tuberculosis dengan teknik PCR menggunakan "Primer X" dibandingkan dengan pemeriksaan mikroskopik (BTA) dan kultur sputum penderita dengan gejala Tuberkulosis paru. *Jurnal Kedokteran Maranatha*, *5*(1), 7–13. http://majour.maranatha.edu/index.php/jurnal-kedokteran/article/view/65

Kemenkes. (2022). *Penderita Tuberkulosis*. Kemenkes. https://yankes.kemkes.go.id/view_artikel/1965/cegah-malnutrisi-pada-penderita-tuberkulosis#:~:text=Menurut data Kementerian Kesehatan

Kemenkes. (2024). *Tuberkulosis*. https://www.puskesmas-bantar.tasikmalayakota.go.id/info-kesehatan/detail/edisi-hari-tuberkulosis-sedunia-2024#:~:text=Capai Eliminasi TBC dengan Semarak,untuk mencapai Eliminasi TBC 2030

Kenedyanti, E., & Sulistyorini, L. (2017). Analisis Mycobacterium Tuberculosis Dan Kondisi Fisik Rumah Dengan Kejadian Tuberkulosis Paru. *Jurnal Berkala Epidemiologi*, *5*(2), 152–162. https://doi.org/10.20473/jbe.v5i2.2017.152-162

Kristini, T., & Hamidah, R. (2020). Potensi Penularan Tuberculosis Paru pada Anggota Keluarga Penderita. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Indonesia*, *15*(1), 24. https://doi.org/10.26714/jkmi.15.1.2020.24-28

Menteri Kesehatan Republik Indonesia, 1 (2019).

Messe, Y., Made Budiarsa, I., Abd, &, & Laenggeng, H. (2020). Desain primer polymerase chain reaction (pcr) secara in silico untuk amplifikasi gen gyra extensively drug resistant tuberculosis (xdr-tb). *Journal of Biology Science and Education*, *8*(2), 616–622. https://jurnal.fkip.untad.ac.id/index.php/ejipbiol/article/view/1169

Mirna Tribun. (2021). *Diagnosis Dan Terapi Tuberculosis Secara Inhalasi*. UGM

Naim, N., & Utami, N. (2018). Performa Tes Cepat Molekuler Dalam Diagnosa Tuberkulosis. *Jurnal Media Analis Kesehatan*, *9*(2), 113–122. https://doi.org/10.1016/j.tube.2021.102103%0Ahttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34144375%0Ahttps://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1472979221000536

Nugraha, J., & Setiawan, H. (2016). Analisis Kadar IFN-γ dan IL-10 pada PBMC Penderita Tuberkulosis Aktif, Laten dan Orang Sehat, Setelah di Stimulasi dengan Antigen ESAT-6. *Jurnal Biosains Pascasarjana* , *18*(1), 50–66.

Pramono, J. S., Hendriani, D., Ardyanti, D., & Chifdillah, N. A. (2023). Implementasi Aplikasi Deteksi Dini Suspek Tuberkulosis Berbasis mHealth di antara Kontak Serumah: Tinjauan Sistematik. *Jurnal Kesehatan Vokasional*, *8*(3), 163. https://doi.org/10.22146/jkesvo.83119

Prihanto Awaludin Asep & Abdul Aziz Jazri. (2019). *Bioteknologi Perikanan dan Kelautan*. UB Press.

Purwakasih, D. B., & Achyar, A. (2021). Desain primer dan PCR In Silico untuk deteksi Shigella sp. pada sampel air minum isi ulang. *Jurnal Serambi Biologi*, *6*(1), 1–6. http://www.ncbi.nlm.nih.gov

Radji, M. (2020). *Mikrobiologi*.BCG:Jakarta

Rahmaniati, R., & Apriyani, N. (2018). Rita Rahmaniati, Nani. *Sosialisasi*

Pencegahan Penyakit Tbc Untuk Masyarakat Flamboyant Bawah Di Kota Palangka Raya, *3*(1), 47–54.

Ramadhan, R., Fitria, E., & Rosdiana. (2017). Deteksi Mycobacterium tuberculosis dengan pemeriksaan paru di puskesmas darul imarah. *SEL Jurnal Penelitian Kesehatan*, *4*(2), 74–81.

Saktiawati, A. M. I., Putera, D. D., Setyawan, A., Mahendradhata, Y., & van der Werf, T. S. (2019). Diagnosis of tuberculosis through breath test: A systematic review. *EBioMedicine*, *46*, 202–214. https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.07.056

Salsabila, N., Fadilah, F., Pramana, R. C., Mutiatul K.A., S., Romzalis, A. A., Ramadhani, D. N., Rachmawati, Y., & 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. https://doi.org/10.15642/ijsl.v2i1.1233

Sigalingging, I. N., Hidayat, W., & Tarigan, F. L. (2019). Pengaruh Pengetahuan, Sikap, Riwayat Kontak Dan Kondisi Rumah Terhadap Kejadian Tb Paru Di Wilayah Kerja Uptd Puskesmas Hutarakyat Kabupaten Dairi Tahun 2019. *Jurnal Ilmiah Simantek*, *3*(3), 87–99.

Susanty E, Zainuddin A, Parluhutan S, RinaY, P. C. E. (2019). Uji Diagnostik GeneXpert MTB/RIF di Rumah Sakit Umum Pusat Haji Adam Malik Medan. *Biosains*, *1*(2).

Susilawati, T. N., & Larasati, R. (2019). *Machine Translated by Google Artikel Ulasan Pembaruan terkini metode diagnostik tuberkulosis dan penerapannya di Indonesia : tinjauan naratif Machine Translated by Google*. *28*(3), 284–291.

Triharinni, T., & Isfandiari, M. A. (2014). Analisis Faktor yang Terkait Test Tuberculin pada Anak dengan Riwayat Kontak TB. *Jurnal Berkala Epidemiologi*, *2*(2), 151–160.

WHO. (2022). *laporan Kasus Tuberkulosis (TBC) Global Dan Indonesia*. https://yki4tbc.org/laporan-kasus-tbc-global-dan-indonesia-2022/

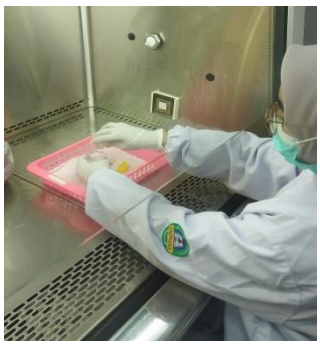
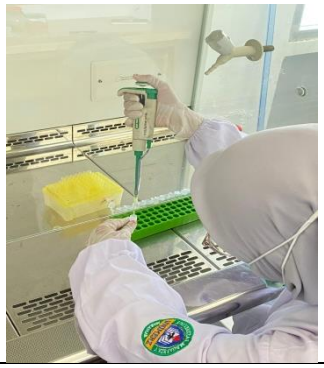
Widyanto, R, M., Nurul, M., Tri, Y. M. R., Irma, S. R., Cleonara, Y. D., & Annisa, R. M. (2021). *Gizi Molekuler*. UB Press.

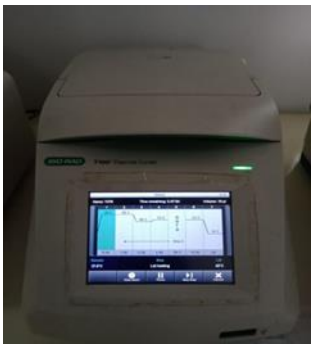
Zuraida, Z., Latifah, I., & Atikasari, Z. I. (2021). Studi Literatur Hasil Pemeriksaan Tcm (Tes Cepat Molekuler), Mikroskopik Bta Dan Kultur Pada Suspek Tb (Tuberkulosis). *Anakes : Jurnal Ilmiah Analis Kesehatan*, *7*(1), 83–87. https://doi.org/10.37012/anakes.v7i1.517

Lampiran 1. Master Data Penelitian

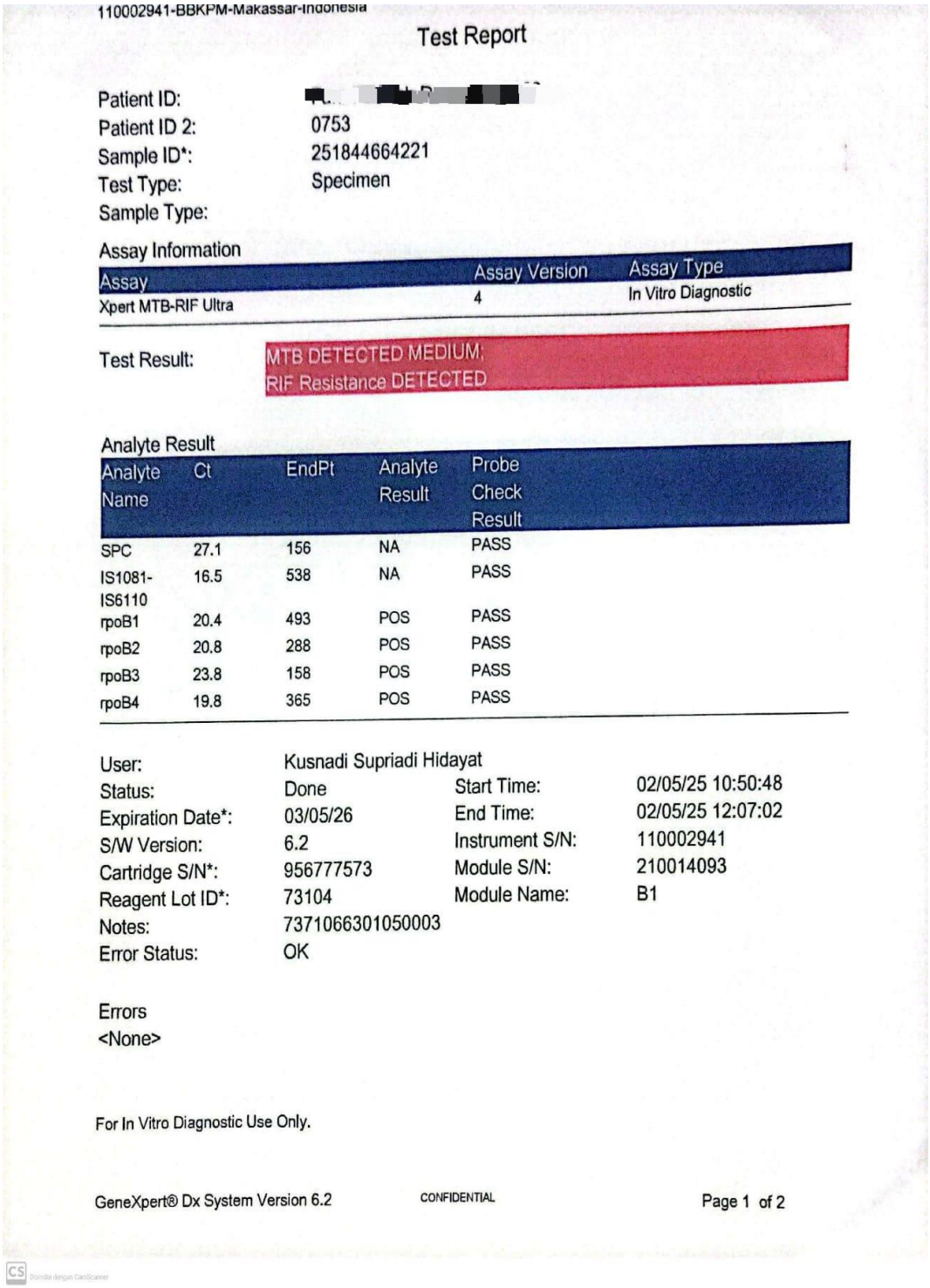
Master Data Penelitian					
No	**Kode Sampel**	**Usia**	**Jenis Kelamin**	**Hasil TCM**	**Hasil PCR**
1	F1	43 tahun	Perempuan	MTB Detected Medium Rif Resistance Detected	+
2	F2	60 tahun	Perempuan	MTB Detected Medium Rif Resistance Detected	+
3	F3	68 tahun	Laki-laki	MTB Detected Medium Rif Resistance Detected	+
4	F4	16 tahun	Perempuan	MTB Detected Medium Rif Resistance Detected	+
5	F5	43 tahun	Laki-laki	MTB Detected High Rif Resistance Detected	-
6	F6	20 tahun	Perempuan	MTB Detected Medium Rif Resistance Detected	+
7	F7	50 tahun	Perempuan	MTB Detected High Rif Resistance Detected	+
8	F8	45 tahun	Perempuan	MTB detected Very Low rif Resistance detected	-
9	F9	66 tahun	Laki-laki	MTB Detected High Rif Resistance Detected	+
10	F10	55 tahun	Laki-laki	MTB Detected Medium Rif Resistance Detected	+
11	F11	65 tahun	Laki-laki	MTB Detected Medium Rif Resistance Detected	+
12	F12	13 tahun	Perempuan	MTB Detected Medium Rif Resistance Detected	+
13	F13	22 tahun	Perempuan	MTB Detected Low Rif Resistance Detected	+
14	F14	37 tahun	Perempuan	MTB Detected High Rif Resistance Detected	+
15	F15	61 tahun	Laki-laki	MTB Detected Low Rif Resistance Detected	+

Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian

Gambar Penelitian	Keterangan
	Proses pencampuran Bufer didalam sputum untuk pemeriksaan TCM
	Kemudian dimasukan dalam Catridge dan dimasukan ke dalam alat GeneXpert
	Proses Pemipetan sampel Sputum ke tabung Microcentrifuge
	Tahapan Ekstraksi DNA

	Tahapan Mix PCR
	Tahapan Runing PCR
	Tahapan Elektroforesis

Lampiran 3. Hasil Pemeriksaan TCM



110002941-BBKPM-Makassar-Indonesia

Test Report

Patient ID: [redacted]
Patient ID 2: 0753
Sample ID*: 251844664221
Test Type: Specimen
Sample Type:

Assay Information

Assay	Assay Version	Assay Type
Xpert MTB-RIF Ultra	4	In Vitro Diagnostic

Test Result: MTB DETECTED MEDIUM;
RIF Resistance DETECTED

Analyte Result

Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result
SPC	27.1	156	NA	PASS
IS1081-IS6110	16.5	538	NA	PASS
rpoB1	20.4	493	POS	PASS
rpoB2	20.8	288	POS	PASS
rpoB3	23.8	158	POS	PASS
rpoB4	19.8	365	POS	PASS

User:	Kusnadi Supriadi Hidayat		
Status:	Done	Start Time:	02/05/25 10:50:48
Expiration Date*:	03/05/26	End Time:	02/05/25 12:07:02
S/W Version:	6.2	Instrument S/N:	110002941
Cartridge S/N*:	956777573	Module S/N:	210014093
Reagent Lot ID*:	73104	Module Name:	B1
Notes:	7371066301050003		
Error Status:	OK		

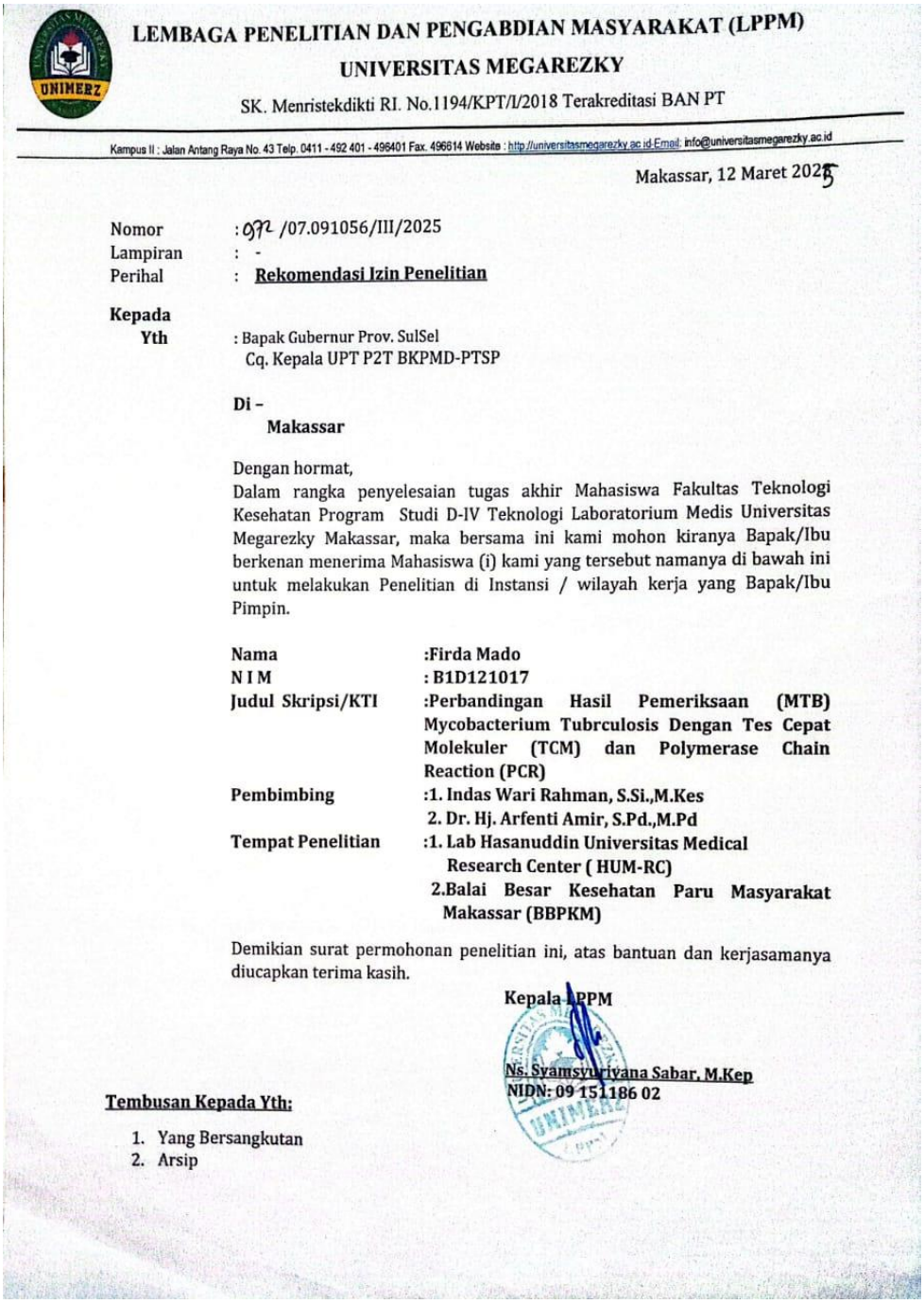
Errors
<None>

For In Vitro Diagnostic Use Only.

GeneXpert® Dx System Version 6.2 CONFIDENTIAL Page 1 of 2

Dipindai dengan CamScanner

Lampiran 4. Surat Rekomendasi Izin Penelitian



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 Email: info@universitasmegarezky.ac.id

Makassar, 12 Maret 2025

Nomor : 092 /07.091056/III/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-IV 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	**:Firda Mado**
N I M	**: B1D121017**
Judul Skripsi/KTI	**:Perbandingan Hasil Pemeriksaan (MTB) Mycobacterium Tubrculosis Dengan Tes Cepat Molekuler (TCM) dan Polymerase Chain Reaction (PCR)**
Pembimbing	**:1. Indas Wari Rahman, S.Si.,M.Kes** **2. Dr. Hj. Arfenti Amir, S.Pd.,M.Pd**
Tempat Penelitian	**:1. Lab Hasanuddin Universitas Medical Research Center (HUM-RC)** **2.Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat Makassar (BBPKM)**

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

Lampiran 5. Surat Keterangan pengantar penelitian

HUM-RC	ADMINISTRASI	FORMULIR 1
	Nomor : 108/04/FR1/2025	Tanggal : 14 April 2025
SURAT PENGANTAR PENELITIAN		

Kepada Yth.
Pembimbing/pendamping,
Bapak Zainul Muttaqin,

Dengan ini menerangkan bahwa peneliti/mahasiswa berikut ini :

Nama	: Firda Mado
NIM	: B1D121017
Institusi	: DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky

Akan melakukan pengambilan data/ analisa bahan hayati :

Pada tanggal	: 15 April 2025 s/d Selesai
Jumlah subjek	: ± 13 sampel
Jenis data	: Data Primer

Untuk penelitian dengan judul :
"Perbandingan Hasil Pemeriksaan (MTB) Mycobacterium tuberculosis Dengan Metode Tes Cepat Molekuler (TCM) Dan Polymerase Chain Reaction (PCR)"

Harap dilakukan pembimbingan dan pendampingan seperlunya. Terima Kasih.

Staf Administrasi,

HUM-RC
science for a better future

Catatan : Untuk *Guide Services*, Proses pengerjaan dilakukan oleh peneliti, Pendamping hanya mendampingi.

Formulir surat pengantar penelitian Hal. 1 dari 1

Lampiran 6. Surat izin penelitian

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	: **6383/S.01/PTSP/2025**	**Kepada Yth.**
Lampiran	: -	1. Direktur HUM-RC RSP Univ. Hasanuddin Makassar
Perihal	: **Izin penelitian**	2. Kepala Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat Makassar (BBPKMM)
		di- **Tempat**

Berdasarkan surat Kepala LPPM Universitas Megarezky Makassar Nomor : 972/07.091056/**III**/2025 tanggal 12 Maret 2025 perihal tersebut diatas, mahasiswa/peneliti dibawah ini:

N a m a	: **FIRDA MADO**
Nomor Pokok	: B1D121017
Program Studi	: Teknologi Laboratorium Medik
Pekerjaan/Lembaga	: Mahasiswa (D4)
Alamat	: Jl. Antang Raya No. 43, Makassar

onptsp
PROVINSI SULAWESI SELATAN

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

" PERBANDINGAN HASIL PEMERIKSAAN MTB (Mycobacterium tuberculosis) DENGAN METODE TES CEPAT MOLEKULER (TCM) DAN POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) DIKOTA MAKASSAR "

Yang akan dilaksanakan dari : Tgl. ***01 April s/d 31 Mei 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 19 Maret 2025

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

ASRUL SANI, S.H., M.Si.
Pangkat : PEMBINA TINGKAT I
Nip : 19750321 200312 1 008

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

Lampiran 7. Surat Kode Etik

KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MAKASSAR
Jalan Wijaya Kusuma Raya No. 46, Rappoccini, Makassar
E-mail: kepkpolkesmas@poltekkes-mks.ac.id

KETERANGAN LAYAK ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL EXEMPTION
"ETHICAL EXEMPTION"
No.: 0328/M/KEPK-PTKMS/III/2025

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The research protocol proposed by

Peneliti Utama : **Firda Mado**
Principal in Investigator

Nama Institusi : **Universitas Megarezky Makassar**
Name of the Institution

Dengan Judul:
Title

"Perbandingan Hasil Pemeriksaan (MTB) Mycobacterium tubrculosis Dengan Tes Cepat Molekuler (TCM) dan Polymerase Chain Reaction (PCR)"

"Comparison of Mycobacterium Tuberculosis (MTB) Examination Results with Molecular Rapid Test (TCM) and Polymerase Chain Reaction (PCR)"

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Layak Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 13 Maret 2025 sampai dengan tanggal 13 Maret 2026.

Declaration of ethics applies during the period March 13, 2025 until March 13, 2026.

Makassar, 13, 2025
Professor and Chairperson,

Hj. Sauti Sinala, S.Si, M.Si, Apt
Ketua KEPK Poltekkes Makassar

Lampiran 8.Surat Keterang Telah melaksanakan Penelitian di (BBKPM)

Kemenkes
RS Tadjuddin Chalid

Kementerian Kesehatan
Direktorat Jenderal Kesehatan Lanjutan
Rumah Sakit Dr. Tadjuddin Chalid Makassar
Jalan Paccerakkang Nomor 67
Pajjaiang Daya Makassar, 90241
(0411) 512902
https://www.rstc.co.id

SURAT KETERANGAN
Nomor: DP.04.03/D.XXVII.4/ 1180 /2025

Berdasarkan Surat Dinas Penanaman Modal Dan Pelayanan Terpadu Satu Pintu (PTSP) Nomor: 6383/S.01/PTSP/2025 tanggal 19 Maret 2025 Perihal Izin Penelitian, maka dengan ini Kepala UPF Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat (BBKPM) Makassar menerangkan bahwa:

Nama	: **FIRDA MADO**
NIM	: B1D121017
Jenjang Program	: D4 – Teknologi Laboratorium Medis

Telah melaksanakan **Penelitian** pada tanggal 01 April 2025 s/d 31 Mei 2025 dengan judul:

"PERBANDINGAN HASIL PEMERIKSAAN MTB (Mycobacterium tuberculosis) DENGAN METODE TES CEPAT MOLEKULER (TCM) DAN POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) DIKOTA MAKASSAR"

Demikian Surat Keterangan ini diberikan untuk digunakan sebagaimana mestinya.

05 JUNI 2025
Kepala UPF BBKPM Makassar

dr. MUH. SALEH A.Y, M. Kes
NIP. 196608092002121004

Lampiran 9. Surat Keterangan telah melakukan penelitian di HUM-RC

HUM-RC	ADMINISTRASI	FORMULIR 2
	Nomor : 313/07/FR2/2025	Tanggal : 7 Juli 2025

SURAT KETERANGAN
SELESAI PENGAMBILAN DATA/ ANALISA BAHAN HAYATI

Dengan hormat,

Dengan ini menerangkan bahwa peneliti/mahasiswa berikut ini :

Nama : Firda Mado
NIM : B1D121017
Institusi : DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky
Judul Penelitian : **Perbandingan Hasil Pemeriksaan (MTB) Mycobacterium Tuberculosis Dengan Metode Tes Cepat Molekuler (TCM) Dan Polymerase Chain Reaction (PCR).**

Telah selesai melakukan pengambilan data/ analisa bahan hayati :

Pada tanggal : 6 Juli 2025
Jumlah subjek : ± 13 sampel
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

dr. Rusdina Bte Ladju, Ph.D
NIP 19810830201212200 2