ARTIKEL PENELITIAN

Akurasi Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* dengan Teknik PCR menggunakan "Primer X" dibandingkan dengan Pemeriksaan Mikroskopik (BTA) dan Kultur Sputum Penderita dengan Gejala Tuberkulosis Paru

Diana Krisanti Jasaputra*, Philips Onggowidjaja**, Sylvia Soeng***
** Bagian Farmakologi, ** Bagian Mikrobiologi,*
**** Bagian Biologi, Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha*

Abstrak

Akhir-akhir ini, terjadi peningkatan jumlah penderita tuberkulosis. Guna pemberantasan penyakit TBC, diagnosis dan deteksi Mycobacterium tuberculosis menjadi amat penting. Deteksi tersebut dapat dilakukan dengan teknik Polymerase Chain Reaction (PCR), pemeriksaan mikroskopik, dan kultur bakteri. Tujuan penelitian ini adalah menilai sensitivitas, spesifisitas, dan akurasi deteksi Mycobacterium tuberculosis dalam sputum penderita TBC paru dengan teknik PCR dibandingkan pemeriksaan secara mikroskopik (Bakteri Tahan Asam/BTA) dan kultur bakteri TBC dalam sputum.

Penelitian ini merupakan suatu uji diagnostik yang dirancang secara cross sectional. Penelitian dilakukan terhadap penderita TB paru di BP4 Jl Cibadak Bandung, mulai April 2004 sampai dengan Agustus 2004.Pemeriksaan sputum penderita dilakukan dengan tiga teknik pemeriksaan, yaitu dengan teknik PCR, pemeriksaan BTA secara mikroskopik, dan kultur bakteri.

Dibandingkan dengan pemeriksaan Bakteri Tahan Asam secara mikroskospik, deteksi Mycobacterium tuberculosis dengan teknik PCR memiliki sensitivitas 30%, spesifisitas 80%, dan akurasi 47%. Uji kemaknaan dengan Mc Nemar memberikan hasil adanya perbedaan yang bermakna. ($p < 0,01$). Dibandingkan dengan metode kultur bakteri TBC, deteksi Mycobacterium tuberculosis dengan teknik PCR memiliki sensitivitas 65%, spesifisitas 40%, dan akurasi 57%. Uji kemaknaan dengan Mc Nemar memberikan hasil tidak adanya perbedaan yang bermakna. ($p = 1,0$). Dibandingkan dengan pemeriksaan Bakteri Tahan Asam secara mikroskospik, deteksi Mycobacterium tuberculosis dengan metode kultur bakteri TBC memiliki sensitivitas 31,6%, spesifisitas 81,8%, dan akurasi 50%. Uji kemaknaan dengan Mc Nemar memberikan hasil adanya perbedaan yang bermakna. ($p < 0,01$).

Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa deteksi Mycobacterium tuberculosis dengan teknik PCR sama baiknya dengan kultur bakteri TBC, namun waktu pemeriksaan dengan teknik PCR lebih singkat dibandingkan dengan kultur bakteri TBC. Mycobacterium tuberculosis banyak tidak terdeteksi dengan pemeriksaan mikroskopik (BTA)

Kata kunci: Akurasi d*eteksi Mycobacterium tuberculosis, PCR, BTA, Kultur TBC*

Pendahuluan

Akhir-akhir ini, di beberapa negara dilaporkan terjadi peningkatan jumlah penderita tuberkulosis. Berbagai faktor yang berperan dalam peningkatan jumlah penderita antara lain kemiskinan, program penan-gulangan yang tidak baik, dan timbulnya infeksi HIV/AIDS.

Saat ini, jumlah kasus tuberkulosis di sebagian besar negara maju hanya 10 sampai 20 kasus tuberkulosis per 100 000 penduduk per tahun, dan angka kematiannya hanya sekitar 1 sampai 5 kematian per 100 000 penduduk. Di negara berkembang angkanya masih cukup tinggi. Di Asia, jumlah penderita baru adalah 110 orang per 100.000 penduduk.

WHO (*World Health Organization*) menyatakan, bahwa sekitar 1,9 milyar manusia, atau sepertiga penduduk dunia, telah terinfeksi tuberkulosis. Setiap detik ada satu orang yang terinfeksi tuberkulosis di dunia ini, dan dalam dekade mendatang tidak kurang dari 300 juta orang akan terinfeksi oleh tuberkulosis. Setiap tahun, ada 4 juta penderita baru tuberkulosis paru menular di dunia, ditambah lagi dengan penderita yang tidak menular. Artinya, setiap tahun di dunia ini terdapat sekitar 8 juta penderita tuberkulosis paru, dan sekitar 3 juta orang yang meninggal.

Indonesia, sebagai salah satu negara yang sedang berkembang, mempunyai berbagai macam masalah kesehatan, antara lain penyakit-penyakit infeksi yang mengenai jaringan paru-paru yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Guna pemberantasan penyakit TBC, diagnosis dan deteksi *Mycobacterium tuberculosis* menjadi amat penting. Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* paru-paru pada sputum dapat dilakukan dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR), pemeriksaan mikroskopik, dan kultur bakteri. Pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* secara mikroskopik memerlukan jumlah kuman tertentu, yaitu 5.000 kuman/ml sputum. Sedangkan, untuk menumbuhkan kuman sebagai biakan/kultur dibutuhkan jumlah sekitar 50 – 100 kuman/ml sputum. Deteksi kuman TBC dengan teknik PCR mempunyai sensitivitas yang amat tinggi. PCR merupakan cara amplifikasi DNA, dalam hal ini DNA *Mycobacterium tuberculosis,* secara *in vitro.* Proses ini memerlukan DNA cetakan (*template*) untai ganda yang mengandung DNA target, enzim DNA polymerase, nukleotida trifosfat, dan sepasang primer.

Penelitian ini bertujuan untuk pengetahui akurasi, sensitivitas, dan spesifisitas deteksi *Mycobacterium tuberculosis* dalam sputum penderita TBC paru dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan menggunakan "primer X", dibandingkan dengan pemeriksaan secara mikroskopik (Pewarnaan Bakteri Tahan Asam/BTA) dan kultur bakteri TBC dalam sputum.

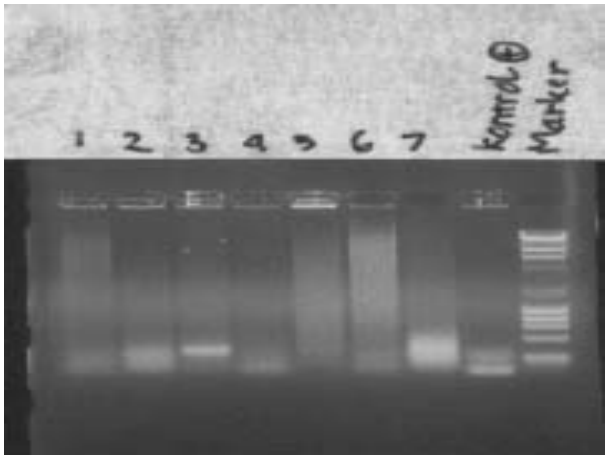
Bahan dan Cara

Penelitian ini merupakan uji diagnostik yang dirancang secara *cross sectional*. Penelitian dilakukan terhadap penderita TB paru di BP4 (Balai Pengobatan Penyakit Paru-Paru) Jl. Cibadak Bandung, mulai April 2004 sampai dengan Agustus 2004. Terhadap penderita dilakukan prosedur pemeriksaan rutin untuk menegakkan diagnosis tuberkulosis, mulai dari anamnesis, pemeriksaan fisik, pemeriksaan foto thoraks, laboratorium darah, tes *mantoux,* dan pemeriksaan sputum. Penderita adalah laki-laki dan perempuan usia 18-74 tahun. Sputum penderita dikirim dan diperiksa secara mikroskopik terhadap bakteri tahan asam (BTA). Kultur bakteri TBC secara konvensional dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FK UKM. Pemeriksaan PCR menggunakan "primer X" dari Laboratorium Biotek RS Rajawali, dilakukan di Laboratorium LP_2IKD FK UKM dan Laboratorium Biotek RS Rajawali.

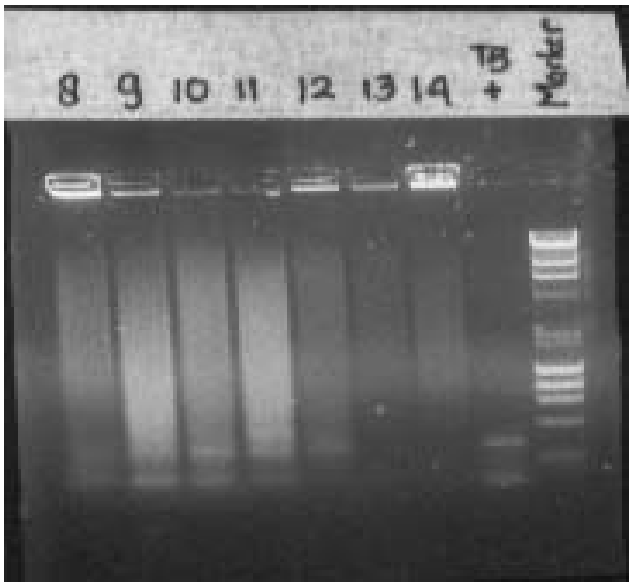
Analisis hubungan hasil pemeriksaan sputum dengan teknik PCR dan pemeriksaan BTA secara mikroskopik, serta kultur bakteri dilakukan dengan uji diagnostik, yaitu menghitung sensitivitas, spesifisitas, dan akurasinya. Kemaknaan ditentukan berdasarkan hasil uji Mc. Nemar.

Hasil dan Pembahasan

Hasil deteksi *Mycobacterium tuberculosis* dengan teknik PCR dapat dilihat pada Gambar 1., 2., 3., 4., dan 5., berikut ini.

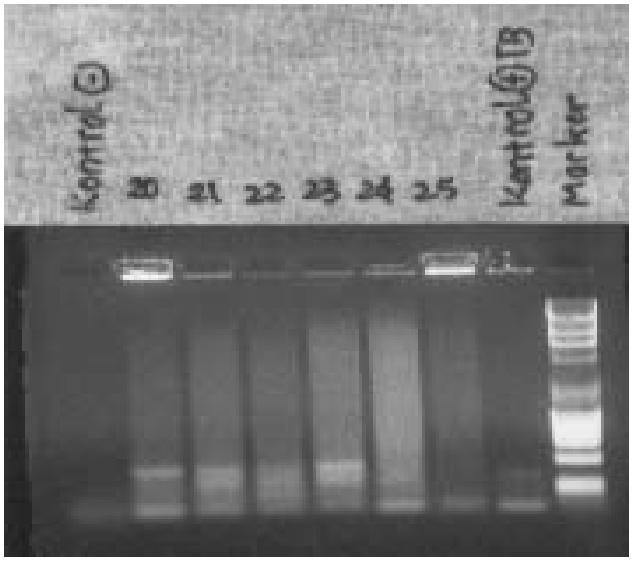


Gambar 1. Hasil Elektroforesis Sampel no
1 (-), 2 (+), 3 (+), 4 (-), 5 (-), 6 (-), 7 (+)

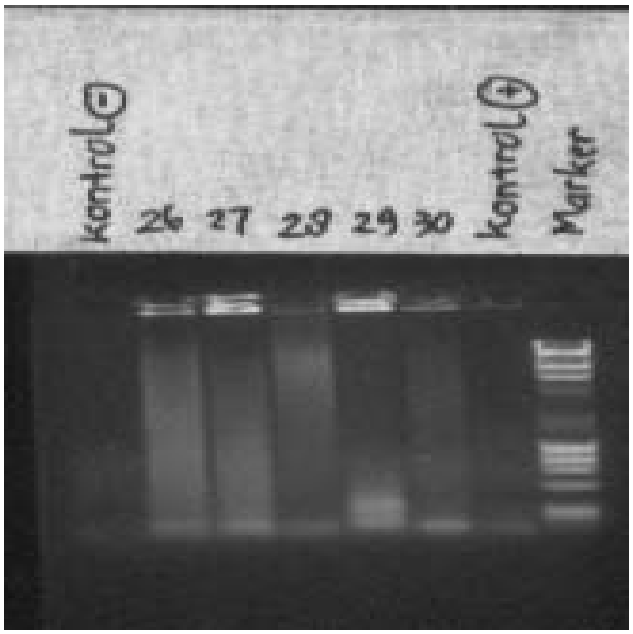


Gambar 2. Hasil Elektroforesis Sampel no
8 (+), 9 (+), 10 (+), 11 (+), 12 (+), 13 (-), 14 (-)

Gambar 3. Hasil Elektroforesis Sampel no
15 (+), 16 (+), 17 (-), 18 (-), 19 (+)



Gambar 4. Hasil Elektroforesis sampel
20 (-), 21 (+), 22 (+), 24 (+), 25 (-)



Gambar 5. Hasil Elektroforesis Sampel no
26 (+), 27 (+), 28 (-), 29 (+), 30 (+)

Hasil deteksi *Mycobacterium tuberculosis* dengan teknik PCR dan pemeriksaan Bakteri Tahan Asam secara mikroskospik disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Deteksi *M.tbc* dengan PCR dan Secara Mikroskopik

BTA	**PCR**		Jumlah
	+	-	
+	6	2	8
-	14	8	22
Jumlah	20	10	30

Keterangan :
Sensitivitas : 6/20 X 100% = 30%
Spesifisitas : 8/10 X 100% = 80%
Akurasi : 14/30 X 100% = 47%
Uji kemaknaan dengan Mc Nemar memberikan hasil $x^2_{M\text{-}N} = 7{,}56$
($p < 0{,}01$), artinya ada perbedaan yang bermakna.

Hasil deteksi *Mycobacterium tuberculosis* dengan teknik PCR dan pemeriksaan kultur bakteri TBC disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Deteksi *M.tbc* dengan PCR dan Kultur Bakteri TBC

Kultur	**PCR**		Jumlah
	+	-	
+	13	6	19
-	7	4	11
Jumlah	20	10	30

Keterangan :
Sensitivitas : 13/20 X 100% = 65%
Spesifisitas : 4/10 X 100% = 40%
Akurasi : 17/30 X 100% = 57%
Uji kemaknaan dengan Mc Nemar memberikan hasil $x^2_{M\text{-}N} = 0$
($p = 1{,}0$), artinya tidak ada perbedaan yang bermakna.

Hasil deteksi *Mycobacterium tuberculosis* dengan pemeriksaan Bakteri Tahan Asam secara mikroskospik dan pemeriksaan kultur bakteri TBC disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Deteksi *M.tbc* secara mikroskopik dan Kultur Bakteri TBC

BTA	**Kultur**		Jumlah
	+	-	
+	6	2	8
-	13	9	22
Jumlah	19	11	30

Keterangan :
Sensitivitas : 6/19 X 100% = 31,6%
Spesifisitas : 9/11 X 100% = 81,8%
Akurasi : 15/30 X 100% = 50%
Uji kemaknaan dengan Mc Nemar memberikan hasil $x^2_{M\text{-}N} = 6{,}67$
($p < 0{,}01$), artinya ada perbedaan yang bermakna.

Hasil analisis statistik menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* dan teknik PCR dengan kultur bakteri TBC. Dengan demikian, pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* dengan teknik PCR cukup baik bila dibandingkan dengan kultur bakteri TBC. Namun pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* dengan teknik PCR mempunyai keunggulan, yaitu waktu pemeriksaannya relative singkat, yaitu hanya 24 jam saja, sedangkan pemeriksaan kultur bakteri TBC membutuhkan waktu 8 – 12 minggu.

Deteksi *Mycobacterium tuberculosis,* baik dengan teknik

PCR maupun dengan kultur bakteri TBC, ternyata secara statistik berbeda bermakna dari deteksi BTA secara mikroskopik. Dengan demikian, *Mycobacterium tuberculosis* dalam sputum sering tidak terdeteksi sebagai BTA secara mikroskopik.

Kesimpulan dan Saran

Penelitian ini menunjukkan, bahwa akurasi deteksi *Mycobacterium tuberculosis* dengan teknik PCR sama dengan pada kultur bakteri TBC, namun waktu pemeriksaan dengan teknik PCR lebih singkat dibandingkan dengan teknik kultur bakteri. Ternyata banyak *Mycobacterium tuberculosis* yang tidak terdeteksi dengan pemeriksaan mikroskopik (BTA).

Oleh karena itu, sebaiknya deteksi *Mycobacterium tuberculosis* dilakukan dengan teknik PCR, mengingat akurasinya yang baik dan membutuhkan waktu pemeriksaan lebih singkat dibandingkan dengan teknik kultur bakteri TBC. Hasil negatif pemeriksaan BTA secara mikroskopik sebaiknya dilanjutkan dengan teknik PCR guna menghindari salah diagnosis.

Daftar Pustaka

Aditama, Tjandra Yoga. 2002. Tuberkulosis, Diagnosis, Terapi, dan Masalahnya, Edisi IV

Finegold, Sydney M; Baron, Ellen Jo. 1986. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology; Seventh edition; The C. V. Mosby Company; St Louis, Toronto, Princeton.

Hanafi, Umu; Soemohardjo, Soewignjo; Achmad, Haryono; Wid, M.A. 2001. Perbandingan Pemeriksaan PCR, Kultur M. tuberculosis dan BTA Cairan Pleura serta Pemeriksaan Radiologi Paru untuk menegakkan Diagnosis Efusi Pleura Tuberkulosis di Rumah Sakit Umum Mataram

Thabrani, Zubaedah; Aditama, Tjandra Yoga; Dawud, Yudanarso; Jusuf, Anwar; Prasetyo, Sabarina; Liusvia, Dewi M. 2001. Pemeriksaan Reaksi Rantai Polimerase dan Hubungannya dengan Mikroskopik BTA dan Biakan Konvensional pada Penderita Tuberkulosis Paru di RSUP Persahabatan

Wargasetia, Theresia Liliana. 2002. Diagnosis Penyakit Infeksi dengan Teknik *Polymerase Chain Reaction*; dalam Majalah Ilmiah Maranatha Vol. XXI/Th.IX/ April 2002.

Wargasetia, Theresia Liliana. 2002. *Polymerase Chain Reaction* dan Aplikasinya; dalam Majalah Ilmiah Maranatha Vol. XXI/Th.IX/ April 2002.