



**UJI DIAGNOSTIK ANTIGEN TUBERKULOSIS KUANTITATIF DIBANDINGKAN
DENGAN TES CEPAT MOLEKULER DAN PEWARNAAN BAKTERI TAHAN**

ASAM PADA SPESIMEN SPUTUM SUBJEK TERDUGA TUBERKULOSIS

PARU

TESIS

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Spesialis Patologi Klinik**



Oleh

dr. Fran Siska

NIM: 188070501111005

PROGAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I PATOLOGI KLINIK

FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2021

**PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS**

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah karya tugas akhir ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur PLAGIASI, saya bersedia karya tugas akhir ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No.20 Tahun 2003 pasal 25 ayat 2 dan pasal 70).

Malang, 6 Desember 2021

Nama : Fran Siska
NIM : 188070501111005
PS : Spesialis I Patologi Klinik

**ABSTRAK**

Siska Fran. 2021. **Uji Diagnostik Antigen Tuberkulosis Kuantitatif dibandingkan dengan Tes Cepat Molekuler dan Pewarnaan Bakteri Tahan Asam pada Spesimen Sputum Subjek Terduga Tuberkulosis.** Tesis Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis I Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Pembimbing (1) dr. Agustin Iskandar, M.Kes, Sp.PK(K) Pembimbing (2) dr. Catur Suci Sutrisnani, M.Biomed, Sp.PK (K).

Latar Belakang: Indonesia merupakan salah satu negara dengan jumlah penderita Tuberkulosis tertinggi. Tuberkulosis disebabkan oleh anggota dari spesies *Mycobacterium tuberculosis complex*. *M. tuberculosis* mengsekresikan protein imunogenik, terdapat 3 protein yang paling banyak diteliti yaitu MPT-64, ESAT-6, dan CFP-10. Ketiga protein ini hanya disekresikan oleh *M. tuberculosis* yang virulen dan hidup.

Tujuan Penelitian: Mengetahui performa diagnostik antigen Tuberkulosis kuantitatif dalam diagnosis TB.

Metode: Studi potong lintang menggunakan sembilan puluh enam sampel sputum terduga Tuberkulosis. Diagnosis Tuberkulosis ditegakan berdasarkan hasil TCM. Pemeriksaan Antigen Tuberkulosis menggunakan ICT dengan tiga antibodi monoklonal terhadap protein TB yang dikuantifikasi dengan reader sedangkan pemeriksaan BTA dilakukan dengan pewarnaan Ziehl Neelsen. Analisis diagnosis menggunakan kurva ROC dengan membandingkan hasil Antigen TB dengan TCM dan Antigen TB dengan BTA.

Hasil dan Pembahasan: Terdapat perbedaan rerata kadar antigen TB kuantitatif antara kelompok TB dan nonTB, ($p < 0.05$). TB antigen memiliki AUC=0,867 ($p < 0.05$), sensitivitas 88,88%, nilai spesifitas 80,77%, nilai ramal positif 51,61%, nilai ramal negatif 96,92% dan nilai akurasi diperoleh 82,30%.

Kesimpulan: Antigen Tuberkulosis kuantitatif memiliki performa diagnostik yang baik dan dapat dipertimbangkan sebagai salah satu metode diagnosis Tuberkulosis.

Kata Kunci: Antigen Tuberkulosis Kuantitatif, pewarnaan BTA, TCM, Tuberkulosis paru, ICT, reader

ABSTRACT

Siska Fran, 2021. **Diagnostic Test of Quantitative Tuberculosis Antigen Compared with Rapid Molecular Test and Acid-Fast Bacterial Staining on Sputum Specimens of Suspected Tuberculosis Subjects.** Thesis of Clinical Pathology Study Program Faculty of Medicine Universitas Brawijaya Malang. Advisor (1) dr. Agustin Iskandar, M.Kes, Sp.PK(K) Advisor (2) dr. Catur Suci Sutrisnani, M.Biomed, Sp.PK (K).

Background: Indonesia is one of the high burden countries with the highest number of Tuberculosis cases. Tuberculosis is caused by members of the *Mycobacterium tuberculosis* complex species. *M. tuberculosis* secretes immunogenic proteins that plays it virulence function, there are 3 most studied proteins, MPT-64, ESAT-6, and CFP-10. These three proteins are only secreted by virulent and viable *M. tuberculosis*.

Research Objectives: To determine the diagnostic performance of quantitative Tuberculosis antigens in lung tuberculosis diagnosis.

Method: The diagnosis of tuberculosis was established based on the results of rapid molecular test. Tuberculosis Antigen examination using ICT with three monoclonal antibodies against TB protein which was quantified with a reader while AFB stain examination was performed with Ziehl, Neelsen staining. Diagnostic analysis using ROC curve and comparing between TB Antigen and rapid molecular test, and comparing between TB Antigen and AFB stain.

Results and Discussion: There was a difference in the median quantitative TB antigen levels between the TB and non-TB groups, ($p < 0.05$). TB antigen had $AUC = 0.867$ ($p < 0.05$), sensitivity 88.88%, specificity 80.77%, positive predictive value 51.61%, negative predictive value 96.92%, accuracy value 82.30%. The optimal cut-off of the TB antigen level in this study is 8.36 ng/mL.

Conclusion and Suggestion: Quantitative Tuberculosis antigen has a good performance in diagnostic of lung Tuberculosis and can be considered as a method to diagnosis lung Tuberculosis.

Keywords: Quantitative Tuberculosis Antigen, AFB smear staining, rapid molecular test, pulmonary tuberculosis, ICT, reader



DAFTAR ISI

Halaman Sampul.....	i
Lembar Pengesahan.....	ii
Pernyataan Orisinalitas Tesis.....	iii
Kata Pengantar.....	iv
Abstrak.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	4
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Akademis.....	5
1.4.2. Manfaat Praktis.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tuberkulosis.....	6
2.2 <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	6
2.3 Epidemiologi Tuberkulosis.....	9
2.4 Patogenesis Tuberkulosis.....	10
2.5 Manifestasi Klinis Tuberkulosis.....	10

Hal

ix



2.5.1 Manifestasi Klinis Tuberkulosis Paru.....	12
2.5.1 Manifestasi Klinis Tuberkulosis Extraparu.....	13
2.6 Diagnosis Tuberkulosis	13
2.6.1 Pemeriksaan Mikroskopik Tuberkulosis.....	13
2.6.2 Pemeriksaan Kultur <i>M. tuberculosis</i>	15
2.6.3 Deteksi Molekuler dengan Pemeriksaan GeneXpert MTB/RIF	17
2.6.3.1 Prinsip Pemeriksaan Xpert MTB/RIF	20
2.6.3.2 Resistensi terhadap Rifampisin.....	22
2.6.3.3 Interpretasi Hasil Xpert MTB/Rif.....	24
2.6.4 Pemeriksaan Antigen Tuberkulosis.....	24
2.6.4.1 ESAT-6 dan CFP-10.....	24
2.6.4.2 <i>Mycobacterium Protein Tuberculosis</i> (MPT)-64.....	26
2.6.4.3 <i>Region of Differences</i>	27
2.6.4.4 Metode Pemeriksaan Antigen Tuberkulosis.....	30
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	34
3.1 Kerangka Konsep.....	34
3.2 Hipotesis	35
BAB IV METODE PENELITIAN	36
4.1 Desain Penelitian	36
4.2 Populasi dan Subjek Penelitian	36
4.2.1 Populasi Penelitian	36
4.2.2 Subjek Penelitian.....	36
4.2.3 Kriteria Inklusi	36
4.2.4 Kriteria Eksklusi.....	37
4.2.5 Cara Pengambilan Sampel.....	37
4.2.6 Perhitungan Sampel Penelitian.....	37
4.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	38



4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	38
4.4.1 Variabel Penelitian.....	38
4.4.2 Definisi Operasional.....	38
4.5 Alat dan Bahan	41
4.6 Cara Pemeriksaan dan Pemanitaan Mutu	41
4.6.1 Cara Pemeriksaan Antigen TB Kuantitatif.....	41
4.6.2 Pemeriksaan Mikroskopik dengan Pewarnaan BTA.....	43
4.7 Persetujuan Penelitian	44
4.8 Alur Penelitian	45
4.9 Analisa Data	45
BAB V HASIL PENELITIAN.....	47
5.1 Karakteristik Subjek Penelitian.....	47
5.2 Analisis Data Penelitian.....	47
5.3 Uji Kesepakatan Kappa Antigen TB Kuantitatif dan BTA dengan TCM.....	48
5.4 Performa Diagnostik Antigen TB Kuantitatif melalui Kurva ROC.....	49
5.4.1 Kurva ROC Antigen TB dalam Diagnosis TB dibandingkan dengan TCM.....	49
5.4.2 Penentuan Cut Off Optimal Antigen TB Kuantitatif.....	50
5.5 Analisis Koefisien Korelasi Antigen TB Kuantitatif dengan BTA dan TCM.....	52
BAB VI PEMBAHASAN.....	53
6.1 Karakteristik Subyek Penelitian.....	53
6.2 Performa Diagnostik Antigen TB Kuantitatif	55
6.2.1 Analisis Perbedaan.....	55
6.2.2 Analisis <i>Kappa Agreement</i>	55
6.2.3 Analisis Kurva ROC dan <i>Cut off</i> TB Antigen Kuantitatif.....	57



6.2.4 Analisis Koefisien Korelasi.....	59
5.3 Implikasi Klinis Antigen Tuberkulosis Kuantitatif.....	59
5.4 Keterbatasan Penelitian.....	60
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN.....	61
7.1 Kesimpulan.....	61
7.2 Saran.....	61
DAFTAR PUSTAKA.....	63
LAMPIRAN.....	74



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Dinding Sel <i>M. Tuberculosis</i>	7
Gambar 2.2 Patogenesis Tuberkulosis	12
Gambar 2.3 <i>M. tuberculosis</i> dengan Pewarnaan Ziehl Neelsen/BTA.....	15
Gambar 2.4 Media Lowenstein Jensen.....	16
Gambar 2.5 Media Cair MGIT yang memiliki Fluoresen pada Dasar Tabung.....	17
Gambar 2.6 Rangkaian Tahan Pemeriksaan GenXpert.....	22
Gambar 2.7 Diagram Skematik Peranan CFP-10/ESAT-6.....	26
Gambar 5.1 Kurva ROC Antigen TB Kuantitatif dibandingkan TCM.....	49
Gambar 5.2 Kurva ROC Antigen TB Kuantitatif dibandingkan TCM.....	51



DAFTAR TABEL

	Hal
Tabel 2.1 Skala IUTLD untuk Pelaporan BTA.....	14
Tabel 2.2 Hasil dan Interpretasi Pemeriksaan Xpert/MTB Rif.....	23
Tabel 4.1 Definisi Operasional Penelitian	39
Tabel 4.2 Kurva Kalibrator Hasil TB Ag Kuantitatif dalam ng/mL.....	43
Tabel 5.1 Karakteristik Subjek Berdasarkan Jenis Kelamin, Usia dan Kelompok Pasien.....	47
Tabel 5.3 Uji Kesepakatan Kappa Antigen TB dan BTA.....	49
Tabel 5.4 Nilai AUC Antigen TB Kuantitatif dibandingkan TCM.....	50
Tabel 5.5 Nilai AUC Antigen TB Kuantitatif dibandingkan BTA.....	50
Tabel 5.6 2x2 Antigen TB Berdasarkan Kelompok Subjek.....	51
Tabel 5.7 Tabel 2x2 Pewarnaan BTA Berdasarkan Kelompok Subjek.....	52



LAMPIRAN

Hal

Lampiran 1 Tabulasi Data Subjek Penelitian.....	63
Lampiran 2 Hasil Analisis Data Karakteristik Subjek Penelitian.....	65
Lampiran 2.1 Statistik Deskriptif Rerata Usia Berdasarkan Kelompok Subjek.....	65
Lampiran 2.2 Statistik Deskriptif Rerata Usia Berdasarkan Jenis Kelamin.....	65
Lampiran 2.3 Statistik Deskriptif Rerata Usia Berdasarkan Jenis Kelamin dan Kelompok Subjek	65
Lampiran 3 Hasil Analisis Data Antigen TB Kuantitatif.....	66
Lampiran 3.1 Uji Normalitas Data Penelitian.....	66
Lampiran 3.2 Data Deskriptif Antigen TB Kuantitatif	66
Lampiran 3.3 Uji Mann Whitney Antigen TB Kuantitatif Berdasarkan Kelompok Pasien.....	67
Lampiran 3.4 Uji Korelasi Spearman Kadar Antigen TB Kuantitatif.....	67
Lampiran 3.5 Kurva ROC Antigen TB Kuantitatif dibandingkan TCM.....	67
Lampiran 3.6 Tabel Koordinat Kurva ROC Antigen TB Kuantitatif dibandingkan TCM.....	68
Lampiran 3.7 Kurva ROC Antigen TB Kuantitatif dibandingkan BTA.....	70
Lampiran 3.8 Tabel Koordinat Kurva ROC Antigen TB Kuantitatif dibandingkan BTA.....	71
Lampiran 4 Dokumentasi Pelaksanaan Penelitian	72



DAFTAR SINGKATAN DAFTAR SINGKATAN

AIDS : *Acquired Immunity Deficiency Syndrome*

AUC : *Area Under the Curve*

BCG : *Bacillus Calmette-Guerin*

BTA : *Bakteri Tahan Asam*

CFP : *Culture Filtrate Protein*

CI : *Confidence Interval*

CSF : *Cerebrospinal Fluid*

DNA : *Deoxyribonucleic Acid*

DPJP : *Dokter Penanggung Jawab Pasien*

ELISA : *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

ESAT : *Early Secreted Antigenic Target*

HIV : *Human Immunodeficiency Virus*

ICT : *Immunochromatography*

IGRA : *Interferon-Gamma Release Assay*

IL : *Interleukin*

IUATLD : *International Union Against Tuberculosis and Lung Disease*

LAM : *Lipoarabinomannan*

Man-LAM : *Mannose-capped Lipoarabinomannan*

MAP : *Mitogen-Activated Protein*

MGIT : *Mycobacteria Growth Indicator Tube*

MOTT : *Mycobacterium Other Than Tuberculosis*

MDR : *Multi Drug Resistant*

MPT : *Mycobacterium Protein Tuberculosis*

MTB : *Mycobacterium tuberculosis*

MTBC : *Mycobacterium tuberculosis Complex*



NAAT : *Nucleic Acid-based Amplification Test*

LPA : *Line Probe Assay*

LSP : *Large Sequence Polymorphisms*

PCC : *Probe Check Control*

PCR : *Polymerase Chain Reaction*

RD : *Region of Difference*

RNA : *Ribonucleic Acid*

ROC : *Receiver Operating Characteristic*

ROS : *Reactive Oxygen Species*

RSUP : *Rumah sakit umum pusat*

SNP : *Single Nucleotide Polymorphisms*

SPC : *Sample Processing Control*

TB : *Tuberkulosis*

TCM : *Test Cepat Molekuler*

TLR : *Toll Like Receptor*

WHO : *World Health Organization*

ZN : *Ziehl-Neelsen*



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit penting penyebab morbiditas, mortalitas, dan tingginya biaya kesehatan. Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO) diperkirakan 10 juta orang sakit disebabkan TB dengan 1.3 juta orang meninggal karena TB pertahunnya. Tuberkulosis merupakan penyebab kematian tertinggi ke-10 di dunia pada 2016. Lima negara dengan insiden tertinggi yaitu India, Indonesia, Cina, Filipina, dan Pakistan. Angka prevalensi TB Indonesia pada tahun 2014 sebesar 297 per 100.000 penduduk. Jumlah kasus baru TB di Indonesia sebanyak 420.994 kasus pada tahun 2017. (Infodatin, 2018, Furin et al., 2019)

WHO merekomendasikan delapan metode diagnostik TB yaitu: 1. Pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan bakteri tahan asam (BTA), 2. Metode kultur cair dengan uji sensitivitas obat, 3. Pemeriksaan *rapid immunochromatography* (ICT), 4. Tes Cepat molekuler (TCM), 5. Uji lipoarabinomannan (LAM) urin untuk mendeteksi TB pada pasien dengan *Human immunodeficiency virus* (HIV) yang sakit parah atau dengan jumlah CD4 kurang dari 100 sel/ μ L, 6. *Loop-mediated isothermal amplification*, 7. *Line Probe Assay* (LPA) untuk mendeteksi resistensi terhadap isoniazid dan rifampisin, dan 8. *Second Line Line Probe Assay* (SL-LPA) untuk mendeteksi resistensi *fluoroquinolone* dan obat injeksi lini kedua. (Acharya et al., 2020)

Baku emas pemeriksaan TB adalah kultur, baik untuk diagnosis maupun monitoring terapi. Kultur memiliki sensitivitas yang sangat tinggi dan hanya membutuhkan 10⁻¹-100 CFU/mL sputum untuk mendapatkan hasil positif. Tetapi pemeriksaan kultur memiliki beberapa kekurangan yaitu membutuhkan waktu



yang lama, biaya yang cukup besar dan teknologi laboratorium yang maju serta adanya risiko kontaminasi. (Dunn et al., 2016)

Pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan BTA memiliki sensitivitas rendah dan bergantung pada kemampuan pemeriksa. Berdasarkan laporan WHO pada 2013, sensitivitas pemeriksaan BTA berkisar 73-95%. (Azadi et al., 2018; Shi et al., 2017; Sudha, 2016)

Tes cepat molekuler (TCM) menggunakan prinsip *Nucleic Acid-based Amplification Test* (NAAT). Tes ini mendeteksi adanya DNA bakteri TB, serta menguji resistensi terhadap rifampisin. WHO merekomendasikan tes ini digunakan sebagai tes diagnosis awal pada orang-orang yang dicurigai menderita TB resisten obat atau TB terkait HIV. Tes ini juga direkomendasikan sebagai tes lanjutan untuk mikroskopi terutama dimana TB *multi drug resistant* (MDR) kurang terdiagnosis, terutama pada spesimen dengan BTA negatif, karena kurangnya akurasi pembacaan BTA dengan mikroskop. (Elier et al., 2016)

M. tuberculosis mensekresikan protein imunogenik yang berperan dalam virulensinya, dimana protein ini akan membantu penempelan dan invasi *M. tuberculosis* ke makrofag sehingga dapat bereplikasi dan menyebar didalam makrofag. Terdapat tiga protein yang banyak diteliti baik untuk kepentingan diagnosis, terapi, maupun pembuatan vaksin TB. Ketiga protein itu adalah *Early Secreted Antigenic Target* (ESAT-6) dan *Culture Filtrate Protein 10* (CFP-10), yang terletak di RD1, dan *Mycobacterium Protein Tuberculosis-64* (MPT-64) yang dikodekan oleh *Region of Difference* (RD)-1, RD-2, dan RD-3. Ketiga protein ini hanya disekresikan oleh MTB yang virulen dan hidup serta tidak disekresikan oleh *M. bovis Bacillus Calmette-Guerin* (BCG) dan absen pada sejumlah *Mycobacterium other than tuberculosis* (MOTT). (Peng and Sun, 2016)

Penelitian yang menggunakan *TB ICT test kit* yang berbasis protein MPT-64 dengan sampel kultur, sensitivitas dan spesifisitas MPT-64 untuk identifikasi MTB



sangat baik, yaitu 99.2 dan 100. (Kumar et al., 2011) Penelitian lain oleh Suryani pada 2016 di Padang dengan sampel sputum tersangka TB menggunakan *rapid ICT* antigen *M. tuberculosis* kualitatif yang dibandingkan dengan pewarnaan BTA. Penelitian tersebut meneliti 23 sampel sputum, dengan hasil tidak terdapat kesesuaian antara uji cepat dan pewarnaan BTA serta tidak bermakna secara statistik. Hal ini mungkin disebabkan jumlah sampel yang terlalu sedikit walau sudah memenuhi penghitungan jumlah sampel minimum. Penelitian lainnya yang membandingkan ICT antigen kualitatif dengan kultur TB dilakukan oleh Gustiani di Bandung pada 2013, dengan hasil sensitivitas dan spesifisitas sebesar 95,7% dan 87,2%. (Gustiani et al., 2014; Suryani et al., 2016)

LAM merupakan komponen dari dinding sel *M. tuberculosis*, penelitian mengenai LAM dengan sampel urin terduga TB anak dilakukan oleh Iskandar di Malang pada 2014. Didapatkan hasil LAM memiliki performa diagnosis TB anak yang baik jika dibandingkan dengan klinis dan konfirmasi mikrobiologis. Tetapi sensitivitas dan spesifisitas pemeriksaan LAM urin jika dibandingkan dengan pemeriksaan mikrobiologis hanya 33% dan 60%, dengan *positive predictive value* (PPV) 30.43%, dan *negative predictive value* (NPV) 63%. (Iskandar et al., 2017)

Pemeriksaan *rapid ICT* merupakan salah satu metode diagnostik TB yang direkomendasikan oleh WHO. Pemeriksaan ini memiliki beberapa keuntungan yaitu dapat mendiagnosis Tuberkulosis dengan cepat, efisien, dan mudah dibawa. Tetapi untuk dapat digunakan sebagai metode diagnostik, metode ini harus memiliki akurasi yang tinggi. (Cao et al., 2021)

Penelitian kali ini menggunakan *rapid strip test* antigen TB kuantitatif dengan tiga macam antibodi terhadap protein TB (ESAT-6, MPT-64, dan CFP-10) yang bertujuan meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas deteksi Tuberkulosis paru.

Selain itu dengan metode ICT diharapkan hasil penelitian ini dapat membantu menegakan diagnosis Tuberkulosis paru dengan cepat, efisien, memiliki akurasi



yang tinggi dan dapat digunakan bahkan di tempat dengan fasilitas kesehatan terbatas.

1.2. Rumusan Masalah

1. Bagaimana performa diagnostik (kurva *receiver operating characteristic* (ROC), sensitivitas, spesifisitas, NPV, PPV, dan akurasi) antigen TB kuantitatif dalam diagnosis TB paru dibandingkan dengan pemeriksaan TCM?
2. Bagaimana performa diagnostik (kurva ROC, sensitivitas, spesifisitas, NPV, PPV, dan akurasi) antigen TB kuantitatif dalam diagnosis TB paru dibandingkan dengan pewarnaan BTA?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan umum

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis performa diagnostik antigen TB kuantitatif pada pasien TB paru dibandingkan dengan pemeriksaan TCM dan pewarnaan BTA.

1.3.2. Tujuan khusus

1. Menentukan performa diagnostik (sensitivitas, spesifisitas PPV, NPV, dan akurasi) antigen TB kuantitatif pada pasien TB paru dibandingkan dengan pemeriksaan TCM.
2. Menentukan performa diagnostik (sensitivitas, spesifisitas, PPV, NPV, dan akurasi) antigen TB kuantitatif pada pasien TB paru dibandingkan dengan pemeriksaan BTA.
3. Menentukan *cut off optimum* antigen TB kuantitatif dalam diagnosis TB paru.



1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Akademis

1. Penelitian ini dapat menambah informasi dan menjadi referensi untuk pengembangan penelitian selanjutnya mengenai pemeriksaan antigen Tuberkulosis.

2. Penelitian ini dapat menambah informasi dan menjadi referensi untuk pengembangan penelitian selanjutnya mengenai pemeriksaan *rapid test* Tuberkulosis

1.4.2. Manfaat Praktis

1. Jika hasil yang didapat dari penelitian ini cukup baik, maka diharapkan penelitian ini dapat digunakan pada praktik klinis sebagai salah satu metode untuk mendiagnosis TB paru.

2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi salah satu pilihan pemeriksaan dalam diagnosis TB paru jika hasil pemeriksaan mikroskopis BTA meragukan dan belum tersedia pemeriksaan TCM.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Definisi Tuberkulosis

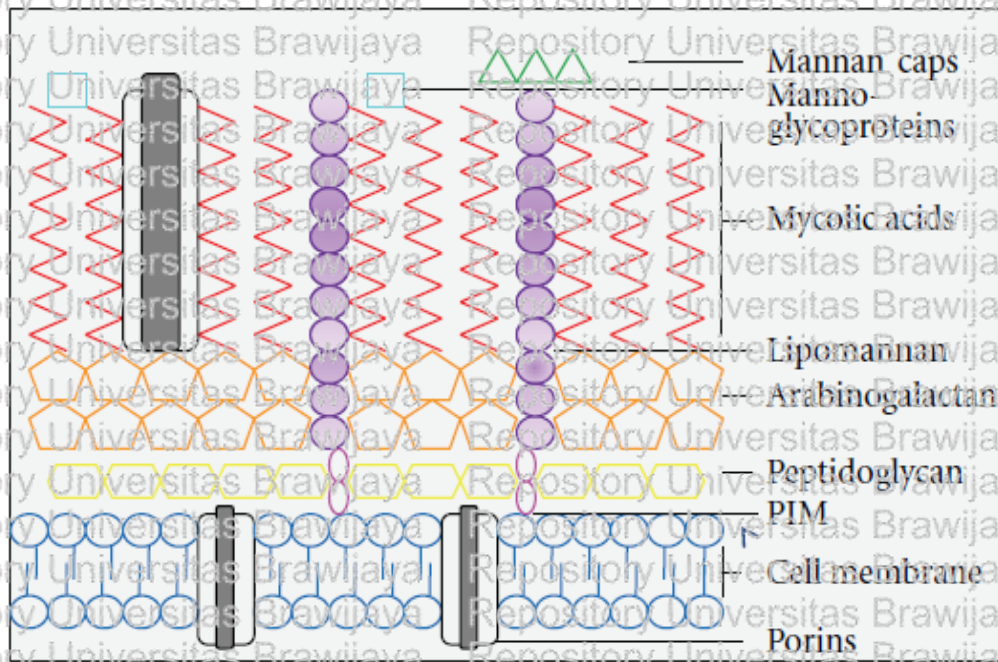
Tuberkulosis adalah suatu penyakit menular yang disebabkan oleh kelompok *Mycobacterium* yaitu *Mycobacterium tuberculosis*. Terdapat beberapa spesies *Mycobacterium*, antara lain: *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. leprae*, yang dikenal sebagai BTA. Kelompok bakteri *Mycobacterium* selain *M. tuberculosis* yang bisa menimbulkan gangguan saluran napas dikenal sebagai MOTT yang terkadang bisa mengganggu penegakan diagnosis dan pengobatan TB. TB menginfeksi hampir semua organ, dan yang paling sering adalah infeksi paru-paru (Agyeman and Ofori-Asenso, 2017).

2.2 *Mycobacterium tuberculosis*

Tuberkulosis disebabkan oleh anggota dari spesies *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC) yang dapat menyebabkan infeksi baik pada manusia maupun hewan. Yang termasuk ke dalam MTBC: *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) yang merupakan agen etiologis pada manusia; *M. africanum*, yang menyebabkan TB pada manusia hanya pada beberapa regio di Afrika (sangat jarang); *M. bovis* (yang menyebabkan TB pada beberapa hewan, manusia dapat tertular infeksi *M. bovis* melalui susu dan produk susu ataupun daging dari hewan yang terinfeksi) *M. microti*, yang menyebabkan TB pada mamalia kecil dan belum diketahui apa menyebabkan TB pada manusia. (Khan et al., 2019)

M. tuberculosis adalah patogen intraselular yang tumbuh lambat dan dapat bertahan hidup dalam makrofag inang. *M. tuberculosis* disebut bakteri tahan asam karena dinding sel yang terdiri dari asam mikolat yang hidrofobik. Dikarenakan ketebalan dari asam mikolat ini, masuknya nutrisi terganggu, sehingga *M. tuberculosis* tumbuh lambat tetapi meningkatkan resistensi terhadap degradasi melalui enzim lisosom. Asam mikolat terdistribusi sebagai lapisan tebal pada

lapisan eksternal dinding sel, dan lapisan internal dari *M. tuberculosis* tersusun dari arabinogalactan, phosphalidyl-myo-inositol mannosides, dan peptidoglikan. Bersebelahan dengan asam mikolat juga terdapat komponen lain seperti mannose-capped lipoarabinomannan (Man-LAM), lipomannan, dan mannoglycoproteins. Mannan dan arabinomannan berada di permukaan dan membentuk kapsul dari bakteri. Man-LAM adalah bagian permukaan sel yang merupakan faktor virulensi penting *M. tuberculosis* (Ravimohan et al., 2018)



Gambar 2.1. Struktur dinding sel *M. tuberculosis* Keterangan: Gambar menunjukkan struktur dari dinding sel dari *M. tuberculosis*. Lapisan dalam tersusun atas peptidoglikan yang berikatan secara kovalen dengan lapisan arabinogalactan. Membran luar tersusun atas asam mikolat, glikolipid lipomannan dan mannoglikoprotein. (Kleinnijenhuis et al., 2011)

Organisme ini termasuk ordo Actinomycetales, familia Mycobacteriaceae dan genus Mycobacterium. Genus Mycobacterium memiliki beberapa spesies diantaranya Mycobacterium tuberculosis yang menyebabkan infeksi pada manusia. Basil TB berbentuk batang ramping lurus, tapi kadang-kadang agak melengkung, dengan panjang 2µm-4µm dan lebar 0,2µm-0,5µm. Mikobakteria



bersifat *non-motile*, tidak membentuk spora, dan tidak berkapsul, tahan terhadap asam dan alkohol setelah pewarnaan dengan *phenicated fuchsin* (Ziehl-Neelsen).

Ketahanan asam menjadi karakteristik penting mikobakteri, yaitu kemampuan sel mikobakteri untuk tidak mengalami dekolorisasi (perusakan warna secara buatan)

pada penggunaan asam. MTB bersifat obligat aerob dan tumbuh lambat.

Membutuhkan 18 jam untuk mengganda dan pertumbuhan pada media kultur biasa dapat dilihat dalam 6-8 minggu (Sanyaolu, 2019).

Suhu optimal untuk tumbuh pada 37° C dan pH 6,4–7,0. Jika dipanaskan pada suhu 60° C akan mati dalam waktu 15-20 menit. Kuman ini sangat rentan

terhadap sinar matahari dan radiasi sinar ultraviolet. Disamping itu, agak resisten terhadap bahan-bahan kimia dan tahan terhadap pengeringan, sehingga

memungkinkan untuk tetap hidup dalam waktu lama di ruangan, selimut dan kain yang ada di kamar tidur. (Sanyaolu, 2019)

Dinding sel MTB 60% terdiri dari kompleks lemak yang menyebabkan kuman bersifat tahan asam, resisten terhadap sebagian besar antibiotik, resisten

terhadap oksidasi dan dapat hidup di dalam makrofag. Dinding sel MTB tersusun oleh: (Tima et al., 2017)

a. Asam mikolat yang menyusun 60% dinding sel MTB adalah penentu utama permeabilitas dinding sel mikobakteria karena sifat hidrofobiknya

yang kuat. Asam mikolat membentuk lapisan lipid di sekeliling organisme.

Asam mikolat dianggap sebagai faktor virulensi utama *M. tuberculosis*

karena komponen ini melindungi bakteri dari serangan protein kationik, lisozim dan radikal oksigen di dalam granula fagositik.

b. *Cord factor* (*trehalose 6-6'-dimycolate*, TDM) adalah glikolipid yang paling

banyak terdapat pada dinding sel mikobakterium, salah satu penyusun

utama dinding sel MTB, bersifat toksik pada sel mamalia, dan



mempengaruhi sistem imun *host* dengan menghambat migrasi sel-sel neutrofil.

c. Wax-D merupakan suatu glikolipid dan peptido glikolipid yang diekstraksi dari fraksi wax *M. tuberculosis*. Wax D memiliki karakteristik adjuvant, yaitu suatu substansi yang memperkuat respon imun tubuh.

M. tuberculosis tidak diklasifikasikan sebagai gram positif maupun negatif, tetapi diklasifikasikan sebagai bakteri *acid-fast*. Jika pewarnaan Gram dilakukan, warna gram positif yang muncul sangat lemah atau tidak sama sekali. MTB sulit untuk diwarnai tapi jika terwarnai, akan mengikat zat warna dengan kuat yang dan tidak dapat dikolorisasi asam alkohol seperti pewarnaan *Ziehl Nielsen*, maka disebut tahan asam. (Sanyaolu, 2019).

2.3. Epidemiologi Tuberkulosis

Tuberkulosis masih merupakan penyakit penting sebagai penyebab morbiditas, mortalitas, dan tingginya biaya kesehatan. Setiap tahun diperkirakan terdapat 9 juta kasus TB baru. TB terus menyebabkan morbiditas dan mortalitas secara global. Berdasarkan data WHO diperkirakan 10 juta orang sakit karena TB; 8.7 juta orang berasal dari negara *high burden countries* dengan 1.3 juta orang meninggal karena TB pertahunnya. TB masih menempati peringkat ke-10 penyebab kematian tertinggi di dunia pada tahun 2016. Lima negara dengan insiden kasus tertinggi yaitu India, Indonesia, Cina, Filipina, dan Pakistan. Jumlah kasus baru TB di Indonesia sebanyak 420.994 kasus pada tahun 2017 (Infodatin, 2018). (Furin et al., 2019).

Tuberkulosis bertanggung jawab terhadap kematian hampir dua juta orang setiap tahun, sebagian besar terjadi di negara berkembang. WHO memperkirakan bahwa TB merupakan penyakit infeksi yang paling banyak menyebabkan kematian



pada anak dan orang dewasa. Kematian akibat TB lebih banyak daripada kematian akibat malaria dan infeksi HIV. Jumlah kasus baru TB di Indonesia sebanyak 420.994 kasus pada 2017 dan TB merupakan satu dari 10 penyebab kematian akibat infeksi di Indonesia. (Ramadhaniah and Syarif, 2020)

2.4. Patogenesis Tuberkulosis

Paru merupakan *port d'entr ee* lebih dari 98% kasus infeksi TB. MTB dalam *droplet nuclei* berukuran sangat kecil ($<5\mu\text{m}$) akan terhirup dan mencapai alveolus. Pada sebagian kasus kuman TB dapat dihancurkan seluruhnya oleh mekanisme imunologis nonspesifik, sehingga tidak terjadi respons imunologis spesifik. Pada individu yang tidak dapat menghancurkan seluruh kuman TB, makrofag alveolus akan memfagosit kuman TB yang sebagian besar dihancurkan, namun sebagian kecil kuman TB yang tidak dihancurkan akan terus berkembang biak dalam makrofag. Selanjutnya, kuman TB membentuk lesi di tempat tersebut, disebut sebagai *primer Ghon*. Kemudian, kuman TB menyebar melalui saluran limfe menuju kelenjar limfe regional. Penyebaran ini menyebabkan limfangitis dan limfadenitis. Gabungan fokus primer, limfangitis, dan limfadenitis disebut kompleks primer (*primary complex*) (Agyeman and Ofori-Asenso, 2017).

Waktu sejak masuknya kuman TB hingga terbentuknya kompleks primer secara lengkap disebut masa inkubasi. Masa inkubasi TB bervariasi antara 2-12 minggu, biasanya 4-8 minggu. Pada saat terbentuknya kompleks primer, TB primer telah terjadi. Setelah terjadi kompleks primer, imunitas selular terhadap TB terbentuk, yang dapat diketahui dengan adanya hipersensitivitas terhadap tuberkuloprotein, yaitu uji tuberkulin positif. Pada sebagian besar individu dengan sistem imun yang berfungsi baik, pada saat sistem imun selular berkembang, proliferasi kuman TB akan berhenti. Namun, sejumlah kecil kuman TB tetap hidup dalam granuloma. Setelah imunitas selular terbentuk, fokus primer di jaringan paru



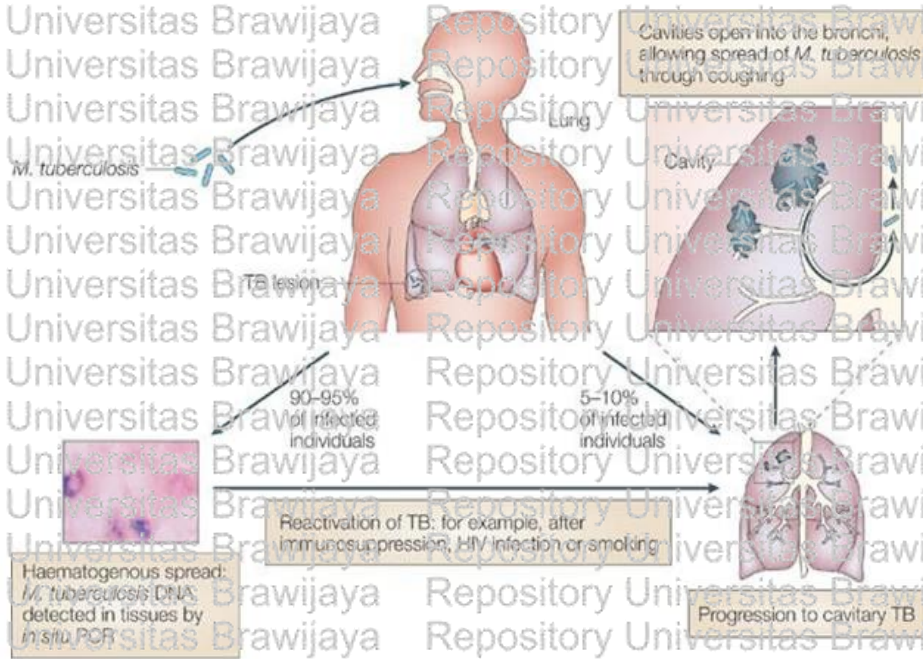
akan mengalami resolusi secara sempurna membentuk fibrosis atau kalsifikasi setelah terjadi nekrosis perkijuan. Jika terjadi nekrosis perkijuan yang berat, bagian tengah lesi akan mencair dan keluar melalui bronkus sehingga meninggalkan kavitas di jaringan paru. Pada materi caseosa yang mencair terdapat basil *M. tuberculosis* dalam jumlah besar yang dapat menyebar ke jaringan paru lainnya dan dapat keluar melalui batuk dan berbicara (Ravimohan et al., 2018).

Bila tidak timbul penyakit, maka telah terjadi keseimbangan antara sistem imun dan reaksi patologis dari *M. tuberculosis*. Faktor yang dapat menimbulkan terjadinya aktivasi *M. tuberculosis* adalah kekuatan sistem imun. Sekitar 10% pasien dengan imunokompeten akan menderita TB. (Agyeman and Ofori-Asenso, 2017)

Pada pasien laten TB, infeksi dapat teraktivasi dalam jangka beberapa tahun, aktivasi dapat terjadi pada hampir semua jaringan karena *M. tuberculosis* menyebar secara limfogen. Lokasi yang sering reaktivasi adalah jaringan paru.

Reaktivasi muncul pada fokus granuloma terutama pada apeks paru. Fokus kaseosa yang besar dapat membentuk kavitas pada parenkim paru. (Agyeman and Ofori-Asenso, 2017; Ravimohan et al., 2018)

Semakin banyak jumlah basil *M. tuberculosis* yang ditularkan maka semakin infeksius. Hal ini dapat dilihat dari jumlah *M. tuberculosis* pada sediaan tahan asam. TB paru berkavitas biasanya lebih infeksius (Ravimohan et al., 2018).



Gambar 2.2. Patogenesis Tuberkulosis Keterangan: Droplet dari *M. tuberculosis* masuk secara inhalasi dan kemungkinan yang dapat terjadi; menjadi stasioner atau dorman di beberapa individu, progresif dalam paru atau menyebar secara hematogen pada sebagian kecil pasien. Reaktivasi pun dapat terjadi setelah beberapa bulan atau tahun dikarenakan penurunan imunitas. (Serafino and Med, 2013)

2.5. Manifestasi Klinis Tuberkulosis

Infeksi TB dapat mengenai hampir seluruh organ, dengan organ tubuh yang tersering terinfeksi adalah paru. Berikut akan dibahas manifestasi TB baik pulmonal maupun ekstrapulmonal (Agyeman and Ofori-Asenso, 2017).

2.5.1. Manifestasi Klinis Tuberkulosis Paru

Tuberkulosis paru adalah TB kasus definitif yang menyerang parenkim paru.

TB miler juga diklasifikasikan karena lesinya juga di paru. Termasuk TB limfadenopati intatorakal (mediastinal dan/atau hilus) atau TB dengan efusi pleura, atau TB tanpa kelainan radiografi. Pasien dengan TB paru yang disertai dengan TB ekstraparu tetap diklasifikasikan TB paru (Agyeman and Ofori-Asenso, 2017).

- Gejala klinis meliputi lokal maupun sistemik yaitu batuk (sering kali 3 minggu atau lebih) yang disertai dengan penurunan nafsu makan, batuk dengan darah, penurunan berat badan, nyeri dada, lemah badan dan terdapat riwayat kontak.



- Tanda klinis adanya gibus, limfadenopati dan benjolan pada leher yang tidak nyeri, kejang karena curiga meningitis, efusi pleura, efusi perikardial, pembesaran abdomen dengan asites dan pembesaran sendi yang tidak nyeri

2.5.2. Manifestasi Klinis Tuberkulosis Ekstraparu

TB ekstraparu adalah TB kasus definitif yang menyerang selain paru seperti: pleura, kelenjar getah bening, abdomen, ginjal, saluran kemih, kulit, sendi, tulang dan selaput otak serta otak. Diagnosis ditegakkan melalui setidaknya satu konfirmasi positif pada spesimen atau histologik atau bukti medis yang kuat. Gejala klinis TB ekstraparu gejala yang muncul kerap kali berhubungan dengan organ yang terlibat. Beberapa gejala sistemik dapat muncul seperti penurunan nafsu makan, keringat malam, dan demam. (Agyeman and Ofori-Asenso, 2017)

2.6. Diagnosis Tuberkulosis

Peranan laboratorium dalam diagnosis dan terapi TB sangatlah besar. Terdapat beragam prosedur laboratorium dalam diagnosis TB, seperti: isolasi agen *microbial*, identifikasi spesies dan juga menentukan sensitivitas antibiotika. Kesuksesan program pengendalian TB bergantung pada kemampuan diagnosis dari jaringan laboratorium. (Azadi et al., 2018).

2.6.1. Pemeriksaan Mikroskopik Tuberkulosis

Pada negara berkembang, dengan fasilitas dan perlengkapan laboratorium belum memenuhi kebutuhan untuk pemeriksaan kultur, pemeriksaan mikroskopik dengan pewarnaan BTA adalah prosedur utama dalam diagnosis TB. Walaupun pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan tahan asam memiliki sensitivitas dibawah pemeriksaan kultur dan bergantung pada kemampuan dari pada pemeriksa. Berdasarkan WHO pada 2013, sensitivitas pemeriksaan BTA dengan



pewarnaan ZN hanya sekitar 73-95%. Pada penelitian lain dilaporkan sensitivitas pemeriksaan dengan ZN bervariasi antara 68-72% dan 62% pada pasien dengan HIV (jika dibandingkan dengan kultur yang positif) dengan spesifisitas 95-98% dan dibutuhkan setidaknya 10^4 basil per milliliter sputum untuk mendapatkan hasil positif. Sedangkan spesifisitas pemeriksaan BTA cukup baik yaitu 96,7-97,5%. (Azadi et al., 2018; Shi et al., 2017; Sudha, 2016)

Pemeriksaan menggunakan pewarnaan metode ZN menggunakan larutan *carbon fuchsin* untuk pewarnaan awal (warna merah) dan larutan *methylene blue* sebagai pewarnaan akhir (warna biru). BTA terlihat jelas berwarna merah terang dengan latar belakang biru. Interpretasi pemeriksaan mikroskopik dengan skala IUATLD (*International Union Against Tuberculosis and Lung Disease*) dijelaskan pada tabel 2. (Blakemore et al., 2011)

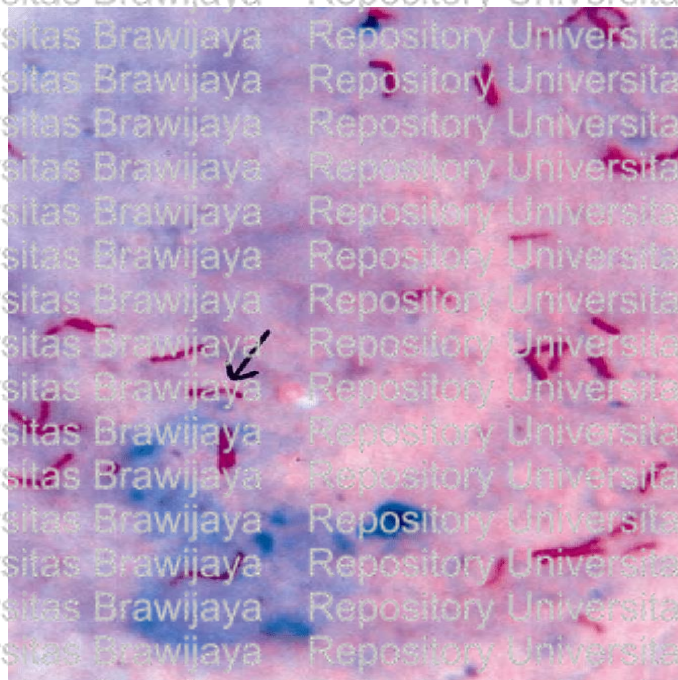
Tabel 2.1. Skala IUATLD untuk Pelaporan BTA (Blakemore et al., 2011)

Pembacaan dibawah Mikroskop	Pelaporan hasil
Tidak ditemukan BTA dalam 100 lapangan pandang	Negatif
1-9 BTA dalam 100 lapangan pandang	Tulis jumlah BTA yang ditemukan
10-99 BTA dalam 100 lapangan pandang	1+
1-10 BTA dalam 1 lapangan pandang	2+
>10 BTA dalam 1 lapangan pandang	3+

Pewarnaan *Auramine-rhodamine* merupakan pemeriksaan yang disarankan oleh WHO. Pemeriksaan preparat dilakukan dibawah mikroskop fluoresen, memudahkan pemeriksa untuk mencari bakteri yang menghasilkan cahaya fluoresen sehingga mempercepat waktu pemeriksaan terutama pada spesimen yang dengan jumlah bakteri sedikit walaupun hanya menggunakan lensa objek 40x atau 25x. Metode ini memiliki sensitivitas 10% lebih tinggi dibandingkan



dengan metode ZN. Kelebihan lain dari metode ini malah tidak diperlukan pemanasan dan penggunaan minyak emersi. (Blakemore et al., 2011)



Gambar 2.3: *M. tuberculosis* dengan pewarnaan Ziehl Neelsen / BTA.

Keterangan: *Mycobacterium tuberculosis* tampak sebagai bakteri berbentuk batang (*rods shaped*) berwarna merah dengan pembesaran objekif 100x. (Dubey et al., 2012)

2.6.2. Pemeriksaan Kultur *M. tuberculosis*

Pemeriksaan kultur merupakan pemeriksaan baku emas yang disarankan oleh WHO. Pemeriksaan ini tepat dilakukan untuk monitoring terapi. Pemeriksaan kultur dapat meningkatkan jumlah ternuan kasus TB yang hanya ditemukan 30-50% apabila hanya dilakukan pemeriksaan mikroskopis saja. Kurang lebih 10/ml bakteri yang masih hidup pada sputum diperlukan untuk menghasilkan kultur yang positif. (Dunn et al., 2016)

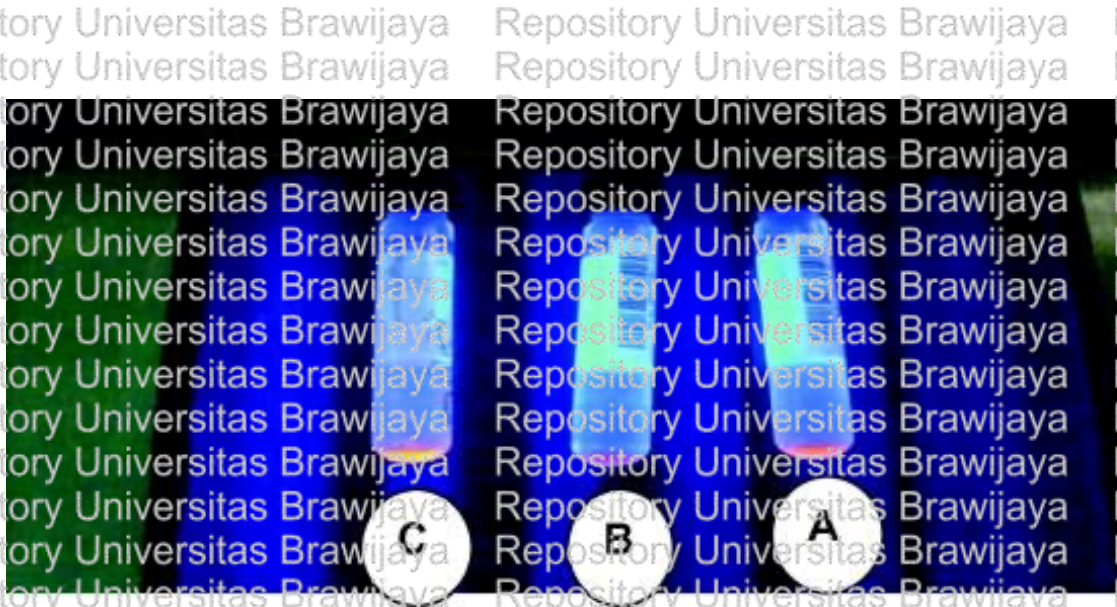
Media yang digunakan untuk kultur terdapat 2 jenis, yaitu padat dan cair. Media padat terdapat 2 macam yaitu yang berbasis telur (Lowenstein-Jensen) dan berbasis agar (contohnya: Middlebrook 7H10, 7H11). Lowenstein-Jensen merupakan media yang paling umum digunakan. Dapat memberikan hasil positif

pada hari ke-25. Pemeriksaan harus dilakukan setiap 1 minggu selama 6-8 minggu untuk menentukan ada tidaknya mikroorganisme yang tumbuh. (Dunn et al., 2016)



Gambar 2.4. Media Lowenstein-Jensen Keterangan: Kultur pada media Lowenstein-Jensen padat menggunakan bahan telur. Kolori MTB yang tumbuh memiliki morfologi tipikal kering dan kuning susu atau krem, bergerombol seperti bunga kol (Agarwal et al., 2005)

Media cair yang digunakan kini telah tersistem otomatis. Salah satu media cair yang sering digunakan adalah *Mycobacteria Growth Indicator Tube* (MGIT) yang memiliki komponen fluoresen pada silikon di dasar tabungnya yang sangat peka dengan keberadaan oksigen pada media. Fluoresen akan dihambat oleh keberadaan oksigen, sementara bila terdapat bakteri yang mengonsumsi oksigen di dalamnya, fluoresen kemudian menghasilkan cahaya. Tabung MGIT yang diinkubasi dalam instrumen kemudian akan secara otomatis berkala diperiksa memberikan hasil positif ataupun tidak. MTBC dapat terdeteksi positif pada hari ke-14, dan pemeriksaan dilanjutkan hingga 6-8 minggu. (Dunn et al., 2016)



A. positif control B. negative control C. test

Gambar 2.5. Media Cair MGIT yang memiliki Fluoresen pada Silikon di

Dasar Tabung. Keterangan: Kultur MTB dengan metode cair, jika terdapat pertumbuhan MTB, MTB akan mengonsumsi oksigen sehingga fluoresensi akan terjadi. A. Kontrol positif: terdapat fluoresen; B: kontrol negatif: tidak ditemukan fluoresen; C: hasil tes positif (Dunn et al., 2016)

Pemeriksaan Resistensi antibiotik merupakan pemeriksaan lanjutan dari kultur. Baik media padat maupun cair dapat mendeteksi resistensi antibiotik dengan cara menambahkan antibiotik konsentrasi tertentu pada media. Obat-obatan yang biasanya diujikan: Obat Lini 1 (Rifampisin, INH, Ethambutol, Streptomisin), dan Lini 2 (Amikacin, Ofloxacin, Kanamicin) (Dunn et al., 2016)

2.6.3. Deteksi Molekuler dengan Pemeriksaan GeneXpert MTB/RIF

Deteksi molekuler TB menggunakan Nucleic acid-based amplification test (NAAT) atau yang biasa dikenal dengan polymerase chain reaction (PCR). Tes ini ditemukan pertama kali di India, dan seiring perkembangannya disebut Tes Cepat Molekuler (TCM). (Dunn et al., 2016) Tes GeneXpert adalah tes molekuler untuk TB yang mendiagnosis TB dengan mendeteksi adanya bakteri TB, serta menguji ketahanan terhadap obat rifampisin. Prinsipnya tes molekuler yang mendeteksi DNA TB. Tes ini menggunakan sampel sputum dan bisa memberi hasil dalam waktu beberapa jam. Tes ini juga bisa mendeteksi mutasi genetik terkait dengan resistansi terhadap obat rifampisin. (Acharya et al., 2020)



WHO merekomendasikan TCM sebagai pemeriksaan diagnosis awal pada orang-orang yang dicurigai menderita TB *multi drug resistant* (MDR) atau TB terkait HIV. Pemeriksaan ini juga direkomendasikan sebagai tes lanjutan untuk mikroskopi di tempat dimana TB dan TB MDR kurang terdiagnosis, terutama pada BTA negatif, karena kurangnya akurasi pembacaan BTA dengan mikroskop. WHO juga menekankan bahwa tes ini tidak menghilangkan kebutuhan akan kultur mikroskopi konvensional dan uji sensitivitas obat. *GeneXpert MTB/RIF* tidak dapat digunakan untuk pemantauan pengobatan, karena mengamplifikasi baik bakteri hidup ataupun mati. (Bojang et al., 2016)

Kelebihan *GeneXpert* adalah reliabilitas yang lebih baik bila dibandingkan dengan mikroskopis sputum dan kecepatan mendapatkan hasil bila dibandingkan dengan kultur. Untuk diagnosis TB, walaupun pemeriksaan mikroskopis sputum cepat dan murah, tetapi seringkali tidak dapat diandalkan, terutama pada HIV positif, dan meskipun kultur merupakan *gold standard*, untuk mendapatkan hasil membutuhkan waktu yang lama. (Acharya et al., 2020)

GeneXpert juga mempunyai kelemahan seperti masa simpan *cartridge* hanya 18 bulan, listrik yang dibutuhkan harus stabil, instrumen perlu dikalibrasi ulang setiap tahun, biaya untuk perawatan, dan suhu dalam penyimpanan alat. Sistem *GeneXpert* terdiri dari alat *GeneXpert*, komputer dan *disposable cartridge*. Alat ini membersihkan, mengkonsentrasi dan mengamplifikasi (dengan cepat, *real time PCR*) dan mengidentifikasi target asam nukleat dalam gen *M. tuberculosis* dan memberikan hasil dari sampel sputum dalam waktu kurang lebih 2 jam, dengan minimal penggunaan tangan. *GeneXpert MTB/RIF* menggunakan *cartridge* yang berisi semua elemen yang dibutuhkan untuk reaksi, termasuk reagen *lyophilized*, *liquid buffer* serta *wash solution* dan bekerja dengan cara menangkap bakteri setelah proses pencucian kemudian DNA bebas dan masuk ke *chamber* pembuangan. *GeneXpert MTB/RIF* dirancang dengan sistem



tertutup untuk mengurangi atau mengeliminasi risiko kontaminasi. Sekali tertutup, *cartridge* jangan pernah dibuka kembali oleh karena itu sebaiknya *cartridge* tidak dibuka apabila persiapan untuk pemeriksaan belum selesai (Blier et al., 2016).

Masing-masing instrumen *GeneXpert* berisi 4 modul yang dapat diakses terpisah. Ukuran instrumen yang lain berisi antara 1-72 modul. Masing-masing modul terdiri dari jarum suntik untuk mengambil atau mengeluarkan cairan, sebuah ultrasonik untuk melisiskan sel, sebuah *thermocycler*, dan *optical sign* untuk meneteksi komponen. *Single use cartridge* berisi: (Blier et al., 2016)

- a) *chamber* untuk menyimpan sampel dan *reagen*,
- b) *valve body* berisi sebuah *plunger* dan *syringe barrel*,
- c) sebuah sistem *rotary valve* untuk mengendalikan pergerakan *chamber*,
- d) sebuah ruang untuk menangkap, menyatukan, mencuci, dan melisis sel,
- e) *reagen lyophilized real-time PCR* dan *buffer* pencuci,
- f) tabung reaksi PCR yang terintegrasi yang secara otomatis diisi instrumen.

Pemakaian *GeneXpert* secara manual sangat mudah: *buffer* ditambahkan pada sampel sputum dengan perbandingan volume yang telah ditentukan (2:1), masukkan sampel ke dalam *cartridge chamber* kemudian *cartridge* dimasukkan ke dalam *GeneXpert*. Setelah itu, semua proses yang terjadi secara otomatis: *GeneXpert* pada awalnya menangkap *M. tuberculosis* dari sampel sputum pada filter membran. Inhibitor mencuci sel organisme yang ditangkap dengan *buffer* kemudian dilisiskan dengan sumber energi ultrasonik dan DNA yang terlepas diekstraksi (dialirkan) melalui saringan membran. Solusi DNA akhirnya dicampur dengan reagen PCR kering kemudian dipindahkan ke dalam tabung PCR untuk *real time PCR* dan dideteksi. Hasilnya dapat diketahui dalam waktu kurang lebih 2 jam. Adanya semua lima sinyal fluoresensi menunjukkan rifampisin sensitif terhadap DNA *M. tuberculosis*. Jika 2- $<$ 5 sinyal fluoresensi diindikasikan bahwa *M.*

tuberculosis resisten rifampisin. Jika sinyal fluoresensi tidak ada atau hanya 1 mengindikasikan tidak adanya DNA *M. tuberculosis* (Weyer et al., 2013).

Sensitivitas *GeneXpert* MTB/RIF lebih baik dari pemeriksaan BTA dan sama dengan kultur media padat. Hal ini dibuktikan dan sudah dilakukan validasi klinis pada pasien di Afrika Selatan, India, Peru, Jerman dan Azerbaijan. Ada sekitar 4.500 spesimen sputum dari 1.500 suspek TB. Hasilnya *GeneXpert* mempunyai spesifitas dan sensitivitas tinggi untuk deteksi DNA *M. tuberculosis* pada hampir semua apusan sputum positif dan kultur positif. Sedangkan resisten rifampisin dideteksi dengan akurasi yang tinggi (Weyer et al., 2013).

2.6.3.1. Prinsip Pemeriksaan Xpert MTB/RIF

Pemeriksaan Xpert MTB/RIF merupakan metode deteksi molekuler berbasis *nested real-time PCR* untuk diagnosis TB. Primer PCR yang digunakan mampu mengamplifikasi sekitar 81 bp daerah inti gen *rpoB* MTB, sedangkan *probe* dirancang untuk membedakan sekuen *wild type* dan mutasi daerah inti yang berhubungan dengan resistensi rifampisin. (Kementerian Kesehatan RI, 2015)

Pemeriksaan tersebut dilakukan dengan mesin *GeneXpert*, dengan sistem otomatis yang mengintegrasikan proses purifikasi spesimen, amplifikasi asam nukleat, dan deteksi sekuen target. Sistem tersebut terdiri atas mesin *GeneXpert*, komputer dan perangkat lunak. Setiap pemeriksaan menggunakan *cartridge* sekali pakai dan dirancang untuk meminimalkan kontaminasi silang. *Cartridge GeneXpert* MTB/RIF juga memiliki *Sample Processing Control (SPC)* dan *Probe Check Control (PCC)*. *Sample processing control* berfungsi sebagai proses kontrol yang adekuat terhadap bakteri target serta untuk memonitor keberadaan penghambat reaksi PCR, sedangkan PCC berfungsi untuk memastikan proses rehidrasi reagen pengisian tabung PCR pada *cartridge*, integritas *probe*, dan stabilitas *dye*. Pemeriksaan Xpert MTB/RIF dapat mendeteksi MTBC dan

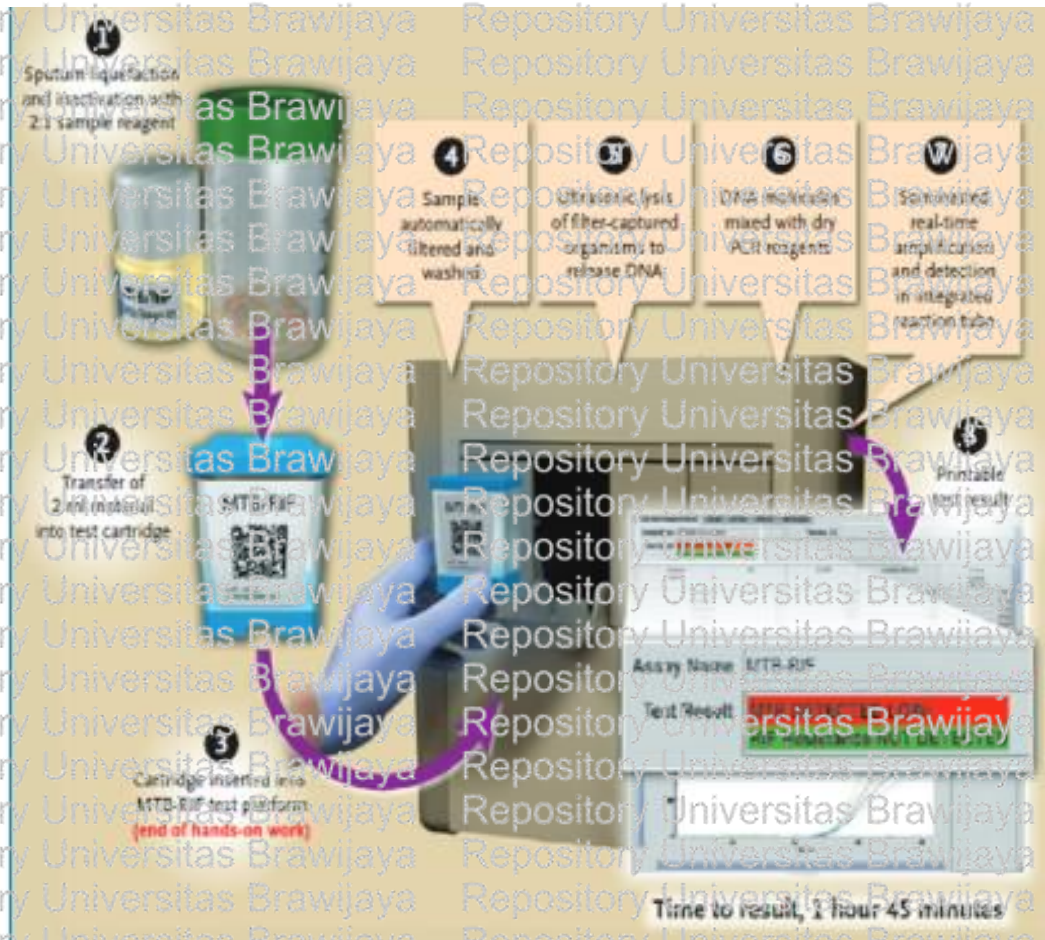


resistensi terhadap rifampisin secara simultan dengan mengamplifikasi sekuen spesifik gen *rpoB* dari MTB menggunakan lima *probe molecular beacons* (probe A

E) untuk mendeteksi mutasi pada daerah gen *rpoB*. Setiap *molecular beacon* dilabel dengan *dye* florofor yang berbeda. *Cycle threshold* (Ct) maksimal yang valid untuk analisis hasil pada probe A, B dan C adalah 39 siklus, sedangkan pada probe D dan E adalah 36 siklus (Weyer et al., 2013). Hasil dapat diinterpretasikan sebagai berikut:

- MTB terdeteksi apabila terdapat 2 *probe* memberikan nilai Ct dalam batas valid dan delta Ct min (selisih/perbedaan Ct terkecil antar pasangan *probe*) < 2.0
- 'Rifampisin Resisten tidak terdeteksi' apabila delta Ct maks (selisih/perbedaan antara *probe* yang paling awal muncul dengan paling akhir muncul) ≤ 4.0
- 'Rifampisin Resisten terdeteksi' apabila delta Ct maks > 4.0
- 'Rifampisin Resisten *indeterminate*' apabila ditemukan dua kondisi berikut:
 - Nilai Ct pada *probe* melebihi nilai valid maksimal (atau nilai 0)
 - Nilai Ct pada *probe* yang paling awal muncul $>$ (nilai Ct valid maksimal – delta Ct maksimal cut-off 4.0)
- 'Tidak terdeteksi MTB' apabila hanya terdapat satu atau tidak ada *probe* positif.

Spesimen yang dapat diperiksa oleh *GeneXpert* dibagi menjadi spesimen dahak dan non-dahak. Spesimen non-dahak terdiri dari cairan serebrospinal (CSF), jaringan biopsi, kelenjar getah bening, bilasan lambung (*gastric lavage*), dan aspirasi cairan lambung (*gastric aspirate*). Masing-masing spesimen memiliki kekhususan untuk diolah sebelum dimasukkan ke dalam *cartridge* untuk diperiksa (Kementerian Kesehatan RI, 2015)



Gambar 2.6. Rangkaian Tahap Pemeriksaan GeneXpert. Keterangan:

Tambahkan dua volume reagen satu volume sputum. Homogenkan, inkubasi pada suhu kamar selama 15 menit. Pindahkan 2-3 mL ke GeneXpert Cartridge dan masukan ke dalam instrumen. Setelah dimuat di dalam Instrumen GeneXpert, ekstraksi DNA, amplifikasi dan deteksi langkah-langkah terjadi secara otomatis dan hasil tes dapat dicetak (Shenai, 2015)

2.6.3.2. Resistensi terhadap Rifampisin

Rifampisin adalah antibiotik bakterisidal yang menghambat *bacterial DNA-dependent RNA polymerase*. Obat ini bekerja dengan cara berikatan pada subunit- β di *RNA polymerase* yang dikode oleh gen *rpoB*. Setelah berikatan, rifampisin akan menghambat transkripsi protein bakteri. Penelitian DNA sequencing membuktikan bahwa lebih dari 95% strain yang resisten terhadap rifampisin terdapat mutasi yang terletak di titik-titik tersering (*hot-spot region*) pada 81 pasang basa nukleotida (codon 507 – 533) gen *rpoB*. Walaupun lebih dari 50 mutasi yang terjadi pada daerah ini telah diketahui melalui DNA sequencing, daerah tersering



yang mengalami mutasi terletak di codon 516, 526, atau 531. Diperkirakan lebih dari 90% TB resisten rifampisin juga resistens terhadap INH, sehingga resisten rifampisin merupakan penanda yang baik untuk TB MDR. (Wondale et al., 2018)

Tabel 2.2. Hasil dan Interpretasi Pemeriksaan Xpert/MTB Rif (Kementerian Kesehatan RI, 2015)

Hasil	Interpretasi	Tindak lanjut
<i>MTB DETECTED; Rif Resistance DETECTED</i>	DNA MTB terdeteksi Mutasi gen <i>rpoB</i> terdeteksi, kemungkinan besar resisten terhadap rifampisin	Lanjutkan sesuai dengan alur diagnosis TB resisten obat
<i>MTB DETECTED; Rif Resistance NOT DETECTED</i>	DNA MTB terdeteksi Mutasi gen <i>rpoB</i> tidak terdeteksi, kemungkinan sensitif Rifampisin	Lanjutkan sesuai dengan alur diagnosis TB biasa
<i>MTB DETECTED; Rif Resistance INDETERMINATE</i>	DNA MTB terdeteksi Mutasi gen <i>rpoB</i> / resistensi rifampisin tidak dapat ditentukan karena sinyal penanda resistensi tidak cukup terdeteksi	Ulangi pemeriksaan*) secepatnya menggunakan spesimen dahak baru dengan kualitas yang baik
<i>MTB Not Detected</i>	DNA MTB tidak terdeteksi	Lanjutkan sesuai alur TB
<i>INVALID</i>	Keberadaan DNA MTB tidak dapat ditentukan karena kurva SPC tidak menunjukkan kenaikan jumlah amplikon, proses sampel tidak benar, reaksi PCR terhambat	Ulangi pemeriksaan dengan <i>cartridge</i> dan spesimen dahak baru*), pastikan spesimen tidak terdapat bahan yang dapat menghambat PCR
<i>ERROR</i>	Keberadaan DNA MTB tidak dapat ditentukan, <i>quality control internal</i> gagal atau terjadi kegagalan system	Ulangi pemeriksaan dengan <i>cartridge</i> baru*), pastikan pengolahan spesimen sudah benar
<i>NO RESULT</i>	Keberadaan DNA MTB tidak dapat ditentukan karena data reaksi PCR tidak mencukupi	Ulangi pemeriksaan dengan <i>cartridge</i> baru*)

Keterangan:

*) Apabila terjadi *Indeterminate/Invalid/Error/No Result* maka hanya diperbolehkan untuk mengulang proses pemeriksaan sebanyak 1 kali.



2.6.3.3. Interpretasi Hasil Xpert MTB/Rif

Sistem GeneXpert memberikan hasil pemeriksaan melalui pengukuran sinyal fluoresensi dan algoritme perhitungan otomatis. Hasil pemeriksaan Xpert MTB/Rif akan menunjukkan ada tidaknya DNA *Mycobacterium tuberculosis* kompleks dan ada tidaknya mutasi penyandi resistensi rifampisin, serta perhitungan semikuantitatif jumlah basil pada spesimen berdasarkan nilai Ct: *high*, <16; *medium*, 16–22; *low*, 22–28; *very low*, >28. Adapun interpretasi hasil TCM berdasarkan kemenkes 2015 dapat dilihat pada Tabel 3.

2.6.4. Pemeriksaan Antigen Tuberkulosis

Identifikasi dan spesifikasi protein antigen TB telah mengundang ketertarikan dari para peneliti. Protein antigen yang di sekresi oleh *Region of Difference-1* (RD-1) telah diteliti secara luas baik itu untuk kepentingan diagnosis maupun pembuatan vaksin. Protein tersebut juga diduga terlibat dalam virulensi serta patogenesis infeksi MTB, terlepas fungsinya sebagai imunogen. Peranan protein yang disekresi oleh MTB pada bakteri itu sendiri yaitu untuk memodulasi sistem pertahanan *host* dengan cara berikatan pada kompelemen pada *signaling pathway* dan mengganggu prosesnya. Biasanya penghindaran sistem imun ini akan menarget makrofag dan memungkinkan MTB mampu bereplikasi didalamnya. (Ganguly et al., 2015)

2.6.4.1. ESAT-6 dan CFP-10

Pada *M. tuberculosis*, ESAT-6 dan CFP-10 banyak diproduksi dan disekresi di kultur, keduanya dikenal sebagai molekul paling imunogenik pada filtrasi kultur.

Sekresi keduanya sangat bergantung pada *excretion system-1* (ESX-1). ESAT-6 dan CFP-10 membentuk ikatan dimer bersamaan yang bergantung satu sama lain baik untuk stabilitas maupun sekresinya. Bersamaan dengan ESX-1, ESAT-6 dan CFP-10 diimplikasikan terlibat pada beberapa mekanisme virulensi mikobakteria.



Antigen-antigen ini mampu memodulasi baik imunitas *innate* maupun *adaptive*, dan inaktivasinya secara dramatis menurunkan virulensi dari *M. tuberculosis*. (Liu et al., 2016)

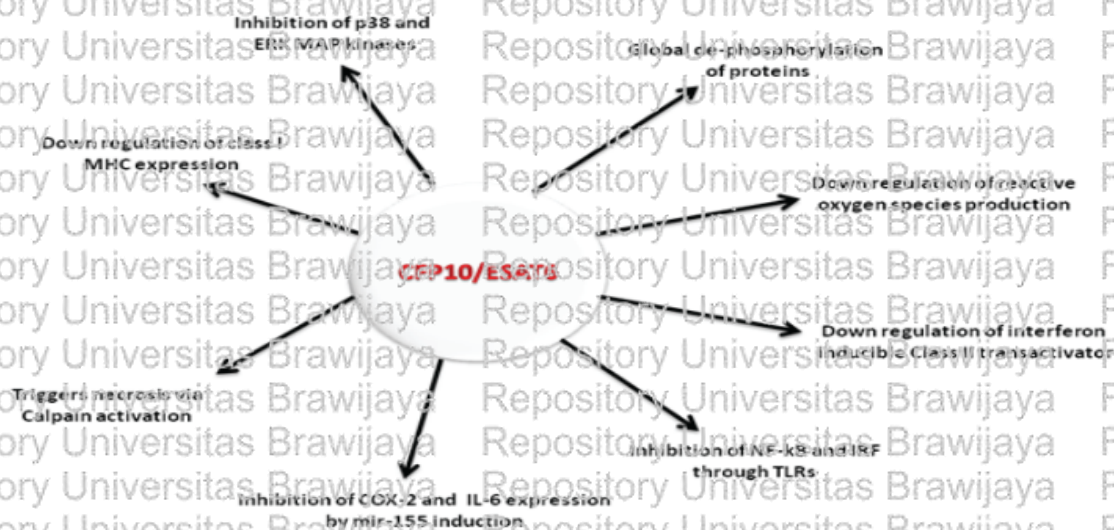
Kompleks ESAT-6 dan CFP-10 disekresikan oleh ESX-1 memiliki peranan poten dalam modulasi fungsi dan kerja makrofag. Hal ini yang menyebabkan banyak penelitian menyatakan bahwa kedua protein ini memiliki peranan penting dalam virulensi dan patogenesis mikobakterial. Saat CFP-10 berikatan dengan permukaan makrofag akan terjadi penekanan produksi *Reactive oxygen species* (ROS) dalam makrofag, dimana ROS seharusnya mengaktifasi mediator imun. Hal ini menyebabkan terjadinya penurunan aktifitas antibakterial makrofag dan menghambat fungsi makrofag (Peng and Sun, 2016).

Mutasi spesifik pada ESAT-6 yang tidak mengganggu fungsi ESX-1 tetap menimbulkan penurunan virulensi dari *M. tuberculosis*. ESAT-6 akan menginduksi apoptosis dari makrofag. ESAT-6 bersamaan dengan CFP-10 ataupun sendiri akan berikatan dengan host proteins seperti laminin pada basolateral *surface of pneumocytes* yang menyebabkan sel ini lisis dan terjadi penyebaran *M. tuberculosis* di paru-paru. ESAT-6 diketahui akan berikatan pada *Toll like receptor-2* (TLR-2) pada permukaan makrofag yang menyebabkan penurunan sekresi interleukin (IL)-12 p40 yang membantu persistensi intraseluler dan ketahanan hidup *M. tuberculosis* intraseluler. ESAT-6 juga menyebabkan inhibisi dari aktivasi *Mitogen-activated protein* (MAP) kinase dan terjadilah penurunan produksi dari *interferon gamma* (IFN- γ) oleh sel T. ESAT-6 juga menginduksi *calcium flux* dan mencetuskan *necrotic pathway* yang mungkin membantu dalam penghindaran sistem imun dan pembentukan jaringan granuloma. (Ganguly et al., 2015; Gonzalo-Asensio et al., 2017)



2.6.4.2. Mycobacterium Protein Tuberculosis (MPT)-64

MPT-64 merupakan salah satu protein kultur utama MTB dengan berat 24 kDa, Protein ini merupakan genom dari dinding sel *M. tuberculosis*. Protein ini diproduksi selama pertumbuhan dari *M. tuberculosis* dan hanya ditemukan pada MTB yang hidup dan aktif bereplikasi. MPT- 64 di kode oleh RD-2 dan menunjukkan sebagai antigen spesifik untuk membedakan MOTT dengan MTBC. Kadar ekspresi MPT-64 tinggi pada penderita TB aktif. Fungsi utama protein ini adalah mempromosikan *survival* dan presistensi MTB dalam sel *host*. Protein ini mendeaktivasi ekspresi sitokin-sitokin apoptosis, sehingga memegang peranan dalam virulensi mikobakteria. Antigen MPT-64 dapat ditemukan baik di sputum maupun serum eksosom seorang penderita TB (Syabekova et al., 2019; Turbawaty et al., 2017)



Gambar 2.7. Diagram Skematik Peranan CFP 10/ESAT-6. Keterangan: Diagram skematik yang menunjukkan berbagai jalur/fungsi di dalam makrofag yang dimodulasi oleh protein *M. tuberculosis* CFP-10/ESAT-6. Beberapa jalur pensinyalan penting dan fungsi fisiologis makrofag dipengaruhi oleh protein ini. (Ganguly et al. 2015)



2.6.4.3. Region of Differences

Metode geonotiping berdasarkan *large sequence polymorphisms* (LSP) dan *single nucleotide polymorphisms* (SNP) merupakan cara untuk penelitian *phylogenetic* dan klasifikasi strain MTBC. Strain MTBC mengandung insersi genomik atau delesi yang berbeda yang disebut LSP, yang juga dikenal dengan *region of difference* (RD). RD didefinisikan sebagai kejadian polimorfisme unik dimana sekali mutasi muncul pada pilogeni spesies maka akan unik dan ireversibel serta tidak memiliki *homoplasy*. RD dapat digunakan sebagai marker pilogenetik disebabkan delesi dari sekeunse genetik dalam satu strain akan diwariskan dan dibawa oleh semua keturunan strain tersebut. RD yang spesifik telah digunakan untuk mengidentifikasi strain MTBC spesifik dan telah digunakan sebagai marker genetik terstandar untuk membedakan MTBC. Hingga saat ini telah ditemukan 31 RD untuk mendiferensiasi strain MTBC. (Faksri et al., 2016)

Pada awalnya Maheiras dkk membandingkan genom dari MTB dan *M. bovis* yang virulen dengan BCG yang avirulen, selama penelitian itu ditemukan 3 regio genom (RD1-RD3) yang terdiri dari 30kb DNA ditemukan terhapus dari genom BCG. Kemudian keberadaan ketiga RD ini dikonfirmasi dengan membandingkan *physical map* kromosom BCG dan MTB. Kemudian ditemukan 13 regio (RD4-RD16) yang terdelesi lagi saat dilakukan pemeriksaan *whole genome DNA microassays*. (Faksri et al., 2016)

Antigen yang dikodekan di gen regio RD *M. tuberculosis* merupakan sumber potensial antigen imunodiagnostik spesifik untuk membedakan infeksi TB dari vaksinasi BCG. Studi genomik komparatif telah mengidentifikasi beberapa segmen pada genom, RD yang hanya terdapat pada MTBC dan tidak pada *M. bovis* BCG atau kebanyakan MOTT. Yang paling menonjol adalah 6-kDa ESAT-6 dan CFP-10, yang terletak di RD1, dan MPT-64 dari sejumlah antigen RD karena potensi diagnostiknya yang menjanjikan. (Ganguly et al., 2015)



Saat ini, beberapa antigen RD telah diteliti dalam peranan potensinya pada pemeriksaan berbasis *T-cell-based cell-mediated immune response* dan/atau *humoral immune antibody-based assays*. (Sotgiu et al., 2019)

Suatu penelitian genom komparatif yaitu penguraian sekuens genom *M. tuberculosis* dan juga analisis komparatif dengan spesies mikobakteria yang lain telah banyak membantu yang mengungkapkan bahwa beberapa regio genom (RD1, RD2, dan RD3) yang terdapat pada MTBC tetapi terdelesi pada substrain *M. bovis Bacillus Calmette-Guerin (BCG)* dan absen pada sejumlah MOTT. (Ren et al., 2018)

Pada penelitian Mahairas dkk yang menggunakan pengurangan genom untuk mengidentifikasi perbedaan lintas genom antara BCG avirulen dan *strain M. bovis* dan *M. tuberculosis* yang virulen. Dengan pendekatan itu, tiga daerah perbedaan genom diidentifikasi, diklon, dan diurutkan. Perbandingan urutan lengkap setiap wilayah dari strain *M. bovis* yang ganas dan substrain BCG *Connaught* mengungkapkan persimpangan yang tepat untuk setiap *region of difference*. Keberadaan RD1–RD3 pada genom *M. tuberculosis*, *M. bovis*, dan juga *M. bovis* BCG dapat dideteksi dengan memakai metode hibridisasi genom substraktif dan dikonfirmasi dengan cara membandingkan *physical map strain* BCG dengan kromosom *M. tuberculosis*. Gen yang menyandi ESAT6, CFP10, dan MPT64 terdapat pada regio RD yang terdelesi ini sehingga RD1–RD3 diduga kuat sebagai gen virulensi yang dimiliki oleh *M. tuberculosis* (Mokrousov et al., 2016).

Regions of Differences 1 (RD-1)

M. tuberculosis memiliki sistem sekresi *excretion system (ESX)* yang berperan penting pada virulensinya. Terdapat 5 jenis sistem sekresi pada MTB, yaitu ESX-1 hingga ESX-5. ESX-1 merupakan sistem sekresi pertama dan paling mengkarakteristik *M. tuberculosis*. ESX-1 juga dikode oleh RD-1. ESX-1 diperlukan untuk virulensi penuh dari MTB karena ESX-1 sangat penting MTB



untuk translokasi dari fagosom ke dalam sitosol makrofag terinfeksi sehingga bakteri mungkin akan tinggal pada lingkungan terlindung. ESX-1 mensekresi ESAT-6 dan CFP-10 yang merupakan protein kecil sangat imunogenik. ESAT-10 dan CFP-6 telah digunakan sebagai dasar pada pemeriksaan metode *interferon-gamma release assay* (IGRA). IGRA dapat digunakan untuk deteksi infeksi TB termasuk pada subjek yang sebelumnya telah menerima vaksin BCG karena BCG tidak mengekspresikan ESAT-6 dan CFP-10. Selain IGRA, protein-protein imunogenik ini juga banyak diteliti untuk pembuatan vaksin TB dan diagnosis TB berdasar antigen. (Gonzalo-Asensio et al., 2017).

Segmen DNA 9.5-kb, disebut RD1, yang absen pada semua substrain BCG tetapi ada di semua strain klinis *M. bovis* dan *M. tuberculosis* dan yang telah terbukti secara laboratoris virulen, menunjukkan bahwa penghapusan RD1 adalah mutasi pelemahan bakteri awal yang muncul di derivasi dari BCG. Pengenalan kembali RD1 ke dalam BCG mengakibatkan represisi setidaknya 10 protein dan menyebabkan ekspresi dari setidaknya tiga protein tambahan, menghasilkan profil ekspresi protein yang hampir identik dengan *M. bovis* dan *M. tuberculosis* yang virulen (meningkatkan virulensi *M. bovis* BCG). Data ini menunjukkan bahwa BCG tidak memiliki kontrol regulasi atas beberapa lokus genetik dan konsisten dengan keterlibatan produk gen yang dikodekan RD1 dalam mekanisme regulasi global yang terkait dengan virulensi. Temuan ini dapat memfasilitasi pendekatan baru untuk penemuan dan pengembangan obat antiTB baru, vaksin, dan tes diagnostik baru yang mampu membedakan individu yang terinfeksi TB dari orang yang divaksinasi BCG. Sedangkan delesi RD-1 pada *M. bovis* menyebabkan penurunan virulensinya (Ganguly et al., 2015)

Wilayah RD-1 terdiri dari sembilan gen *open reading frame* dari Rv3871c hingga Rv 3879c. CFP10 dan ESAT6 dikodekan oleh ORFs Rv3874 dan Rv3875 merupakan antigen poten yang dapat menginduksi respon sel limfosit T. Virulensi



M. bovis secara nyata berkurang setelah lokus RD-1 dihapus; namun, pengenalan lokus RD-1 ke *M. bovis* BCG meningkatkan virulensinya hal ini digunakan dalam pembuatan vaksin, sehingga memberikan respon perlindungan vaksin yang lebih baik. RD-1 ini, terbanyak merupakan kluster gen ESAT-6, telah dinyatakan sebagai stimulator sistem imun yang poten dan sebagai antigen yang dikenal pada awal infeksi. (Gonzalo-Asensio et al., 2017)

Regions of Differences 2 (RD-2)

MPT-64 merupakan salah satu antigen yang di sekresi oleh protein imunogenik *M. tuberculosis* yang dikodekan oleh regio gen RD-2, dan memiliki kemampuan untuk menjadi antigen spesifik dalam membedakan *M. tuberculosis* dari MOTT. Penelitian mengungkapkan bahwa MPT-64 tidak diproduksi oleh dan MOTT juga beberapa substrains *M. bovis* BCG. MPT-64 juga dieksresikan selama fase pertumbuhan aktif MTB. MPT-64 telah digunakan untuk identifikasi cepat MTB pada spesimen klinis. (Arora et al., 2015; Sakashita et al., 2020)

Regions of Differences 3 (RD-3)

RD3, segmen genom 9.3 kb yang tidak ada dari semua sub-galur BCG, ditemukan di galur laboratorium ganas *M. bovis* dan *M. tuberculosis*, tetapi hanya pada sebagian kecil isolat klinis *M. tuberculosis* yang diuji.

2.6.4.4. Metode Pemeriksaan Antigen Tuberkulosis

Pemeriksaan berbasis deteksi antigen masih banyak diteliti dan terus dikembangkan. Pemeriksaan ini bertujuan untuk mendeteksi antigen TB yang bersirkulasi dalam spesimen klinis seperti serum, sputum, urin, CSF, dan cairan pleura. Metode pemeriksaan yang dapat digunakan (Chae and Shin, 2018; Turbawaty et al., 2017):

1. Metode berbasis *Polymerase chain reactions* (PCR)
2. *Sandwich enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA)



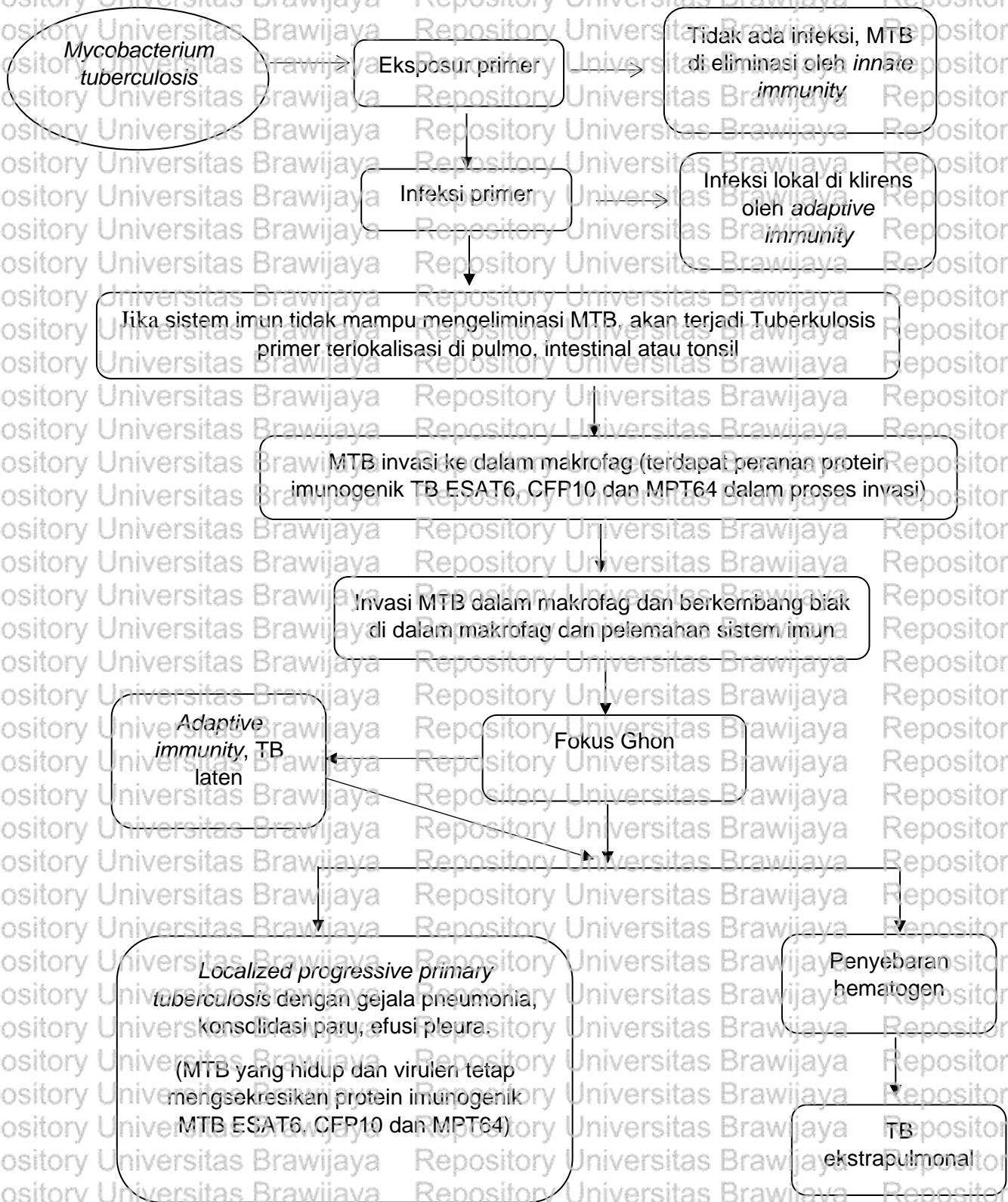
3. Pemeriksaan IGRA, yaitu tes darah *in vitro* untuk mengukur respon imun yang dimediasi sel, tes ini mengukur pelepasan IFN gamma oleh sel-T dari stimulasi oleh antigen spesifik untuk MTB kompleks (dengan pengecualian substrain BCG), yaitu ESAT-6 dan CFP-10, yang dikode RD1 dari *M. tuberculosis genome*.

4. Pemeriksaan lain adalah dengan uji *lateral flow* imunokromatografi (ICT). Metode pemeriksaan ICT mempunyai beberapa keuntungan, diantaranya cepat, mudah, praktis, dan tidak rumit. Teknik ini telah dikembangkan untuk mendeteksi antigen TB dengan menggunakan satu atau kombinasi tiga antibodi monoklonal untuk mendeteksi antigen TB spesifik ESAT6, CFP10 dan MPT64 yang disekresikan oleh *M. tuberculosis* pada masa aktifnya.

5. Aglutinasi adalah metode alternatif yang dapat mendeteksi antigen ketika mereka menggumpal dengan antibodi dan membentuk kompleks visual.



2.6 Kerangka Teori



2.6.1. Penjelasan Kerangka Teori

Paru merupakan *port d'entrée* lebih dari 98% kasus infeksi TB. Kuman TB dalam percik renik (*droplet nuclei*) berukuran sangat kecil ($<5\mu\text{m}$) akan terhirup dan mencapai alveolus. Pada sebagian kasus kuman TB dapat dibersihkan seluruhnya oleh mekanisme imunologis nonspesifik, sehingga tidak terjadi respons imunologis spesifik. Pada individu yang tidak dapat menghancurkan seluruh kuman TB, makrofag alveolus akan memfagosit kuman TB yang sebagian besar dihancurkan, namun sebagian kecil kuman TB yang tidak dapat dihancurkan akan terus berkembang biak dalam makrofag.

Invasi MTB ke dalam makrofag *host* difasilitasi oleh beberapa protein imunogenik, yang paling sering yaitu ESAT6, CFP10 dan MPT64. Selain membantu invasi ke dalam makrofag *host*, protein-protein ini juga menyebabkan berbagai mekanisme yang mengakibatkan pelemahan daripada sistem imun *host*.

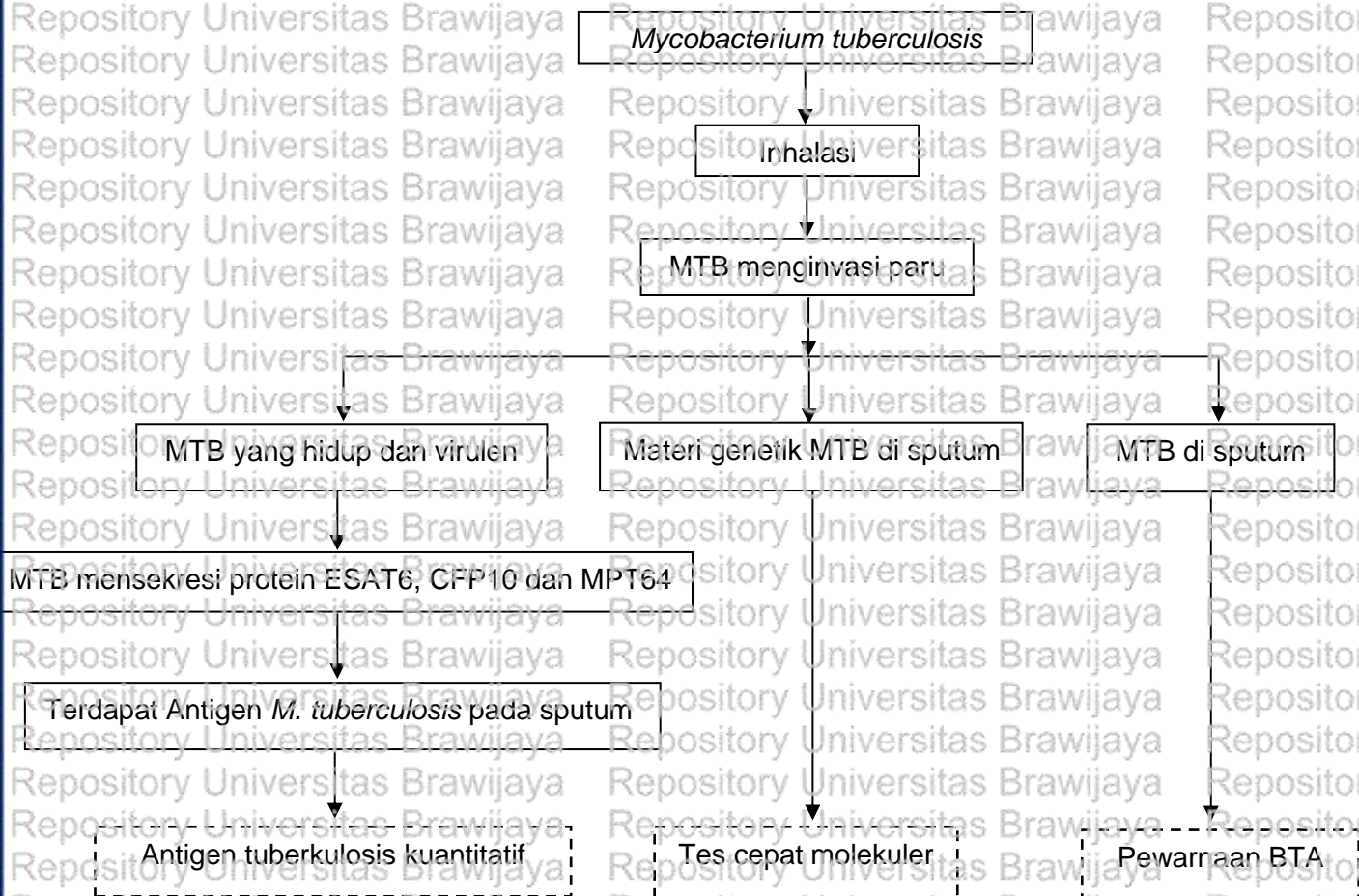
Selanjutnya, kuman TB membentuk lesi di tempat tersebut, disebut sebagai *primer Ghon*. Dari *primer Ghon*, kuman TB menyebar melalui saluran limfe menuju kelenjar limfe regional. Penyebaran ini menyebabkan terjadinya inflamasi di saluran limfe (limfangitis) dan di kelenjar limfe (limfadenitis).

Setelah terbentuknya *focus Ghon*, infeksi TB dapat terjadi 3 kemungkinan yaitu: 1. terjadinya *Localized progressive primary tuberculosis* dengan gejala pneumonia, konsolidasi paru ataupun efusi pleura. 2. Penyebaran hematogen kuman TB ataupun 3. Terjadinya TB laten (pada 95% kasus dengan adanya *adaptive immunity*, infeksi TB akan bersifat laten. Infeksi laten ini dapat mengalami reaktivasi jika terdapat penurunan sistem imun *host*).



BAB III KERANGKA PENELITIAN

3.1. Kerangka Konsep



Keterangan:

Variabel yang diteliti:

3.2. Penjelasan Kerangka Konsep

Infeksi *M. tuberculosis* masuk melalui saluran napas, kemudian MTB akan menginfeksi paru-paru. MTB mensekresi protein ESAT6, CFP10 dan MPT64, protein-protein ini akan menginvasi makrofag yang menyebabkan penurunan aktifitas antibakterial dari makrofag dan juga menginhibisi fungsi makrofag. Ketiga protein yang disekresi oleh MTB ini nantinya akan terdapat pada sputum penderita TB paru. Protein ESAT6, CFP10 dan MPT64 hanya disekresi oleh MTB yang



masih hidup dan tidak disekresi oleh strain *M. bovis* BCG, sehingga tidak ada *cross reactivity* antara MTB yang virulen dengan vaksinasi BCG. Ketiga protein ini akan diperiksa dengan menggunakan metode antigen TB kuantitatif.

MTB merupakan bakteri tahan asam yang akan berwarna merah dengan pewarnaan *Ziehl neelsen*. Bakteri TB yang menginfeksi paru-paru dan dapat ditemukan pada sputum penderita TB paru. Diagnosis TB paru dengan pemeriksaan pewarnaan BTA sputum memiliki sensitivitas bervariasi antara 73-95% dan dibutuhkan setidaknya 10^4 basil per mililiter sputum.

Pemeriksaan TCM dengan prinsip *real time* PCR mendeteksi adanya DNA asam nukleat gen *M. tuberculosis* dalam sputum pasien. Gen yang dideteksi adalah gen *rpoB* yang juga mengkode 95% resistensi terhadap rifampisin.

Pemeriksaan tersebut dilakukan dengan mesin *GeneXpert*, yang menggunakan sistem otomatis yang mengintegrasikan proses purifikasi spesimen, amplifikasi asam nukleat, dan deteksi sekuen target. Tes ini tidak dapat digunakan untuk pemantauan pengobatan, karena mengamplifikasi baik bakteri hidup ataupun mati.

3.3. Hipotesis Penelitian

Pemeriksaan antigen TB kuantitatif yang mendeteksi keberadaan protein imunogenik TB (ESAT6, CFP10 dan MPT64) dengan sampel sputum memiliki nilai diagnostik yang lebih baik dibandingkan dengan pewarnaan BTA dan tes cepat molekuler pada penderita TB paru.



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian observasional dengan desain *cross sectional*.

Pada subjek terduga TB paru yang datang ke RS Supraoen, RS Saiful Anwar Malang, maupun RS Kepanjen Malang yang diperiksa TCM, sampel sputum tersebut kemudian dilakukan pemeriksaan antigen TB kuantitatif, dan pewarnaan BTA.

4.2. Populasi dan subjek Penelitian

4.2.1. Populasi Penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah pasien terduga TB paru di RS Supraoen Malang, RS Dr. Saiful Anwar Malang, dan RS Kepanjen Kabupaten Malang.

4.2.2. Subjek Penelitian

Subjek penelitian adalah semua pasien terduga TB paru yang diperiksa TCM sputum di RS Dr. Saiful Anwar Malang, RS Supraoen Malang, dan RS Kepanjen Kabupaten Malang yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

4.2.3. Kriteria Inklusi

1. Pasien terduga TB paru yang diperiksa TCM sputum
2. Dengan kriteria:
 - Pasien yang dicurigai menderita TB paru oleh dokter penanggung jawab pasien berdasarkan gejala dan riwayat kontak ataupun foto rontgen yang mengarah TB paru.
 - Sampel sputum dengan volume minimal 2ml, dengan konsistensi mukopurulen.



4.2.4. Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi penelitian ini adalah sampel sputum yang sudah disimpan lebih dari dua hari.

4.2.5. Cara Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah *consecutive sampling*.

4.2.6. Perhitungan Jumlah Sampel Penelitian

Rumus yang digunakan untuk menentukan besar sampel pada penelitian ini adalah menggunakan rumus penentuan besar sampel untuk uji diagnostik dengan keluaran AUC (Dahlan, 2009). Rumus tersebut adalah sebagai berikut :

$$n = \frac{(Z\alpha\sqrt{2V1} + Z\beta\sqrt{V1+V2})^2}{(\theta_1 - \theta_2)^2}$$

$$n = \frac{(1,64(0,173) + 1,28(0,451451))^2}{(0,1)^2}$$

$$n = \frac{(0,284 + 0,451)^2}{(0,1)^2} = 0,549$$

$$n = 55$$

Keterangan:

$Z\alpha$ = 1,64 (deviat baku alpha dengan kesalahan tipe I (α) ditetapkan sebesar 5%)

$Z\beta$ = 1,28 (deviat baku beta dengan kesalahan tipe II yang ditetapkan sebesar 10%)

θ_1 = AUC dari indeks yang diteliti (0,9)

θ_2 = AUC dari indeks yang sudah diketahui (0,8)



$\theta_1 - \theta_2$ = selisih minimal AUC antara dua indeks yang dianggap bermakna, ditetapkan sebesar 0.10 dari AUC urine LAM (0,8). (Iskandar et al., 2017)

$$V_1 = Q_{11} + Q_{21} - 2\theta_1^2 = 0,818 + 0,852 - 1,62 = 0,03$$

$$V_2 = Q_{12} + Q_{22} - 2\theta_2^2 = 0,667 + 0,711 - 1,28 = 0,098$$

$$Q_{11} = \text{Nilai } Q_1 \text{ dari indeks yang diteliti} = \theta_1 : (2 - \theta_1) = 0,9 : 1,11 = 0,818$$

$$Q_{21} = \text{Nilai } Q_2 \text{ dari indeks yang diteliti} = 2\theta_1^2 : (1 + \theta_1) = 1,62 : 1,9 = 0,852$$

$$Q_{12} = \text{Nilai } Q_1 \text{ dari indeks yang diteliti} = \theta_2 : (2 - \theta_2) = 0,8 : 1,2 = 0,667$$

$$Q_{22} = \text{Nilai } Q_2 \text{ dari indeks yang diteliti} = 2\theta_2^2 : (1 + \theta_2) = 1,28 : 1,8 = 0,711$$

Jumlah subjek minimal yang dihitung berdasarkan rumus tersebut adalah sebanyak 55 orang.

4.3 Waktu dan Tempat penelitian

Penelitian berlokasi di Laboratorium mikrobiologi dan parasitologi Fakultas Kedokteran Brawijaya Malang. Dengan waktu pelaksanaan dimulai dari Juli 2019 hingga Desember 2019.

4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.4.1. Variabel Penelitian

Variabel penelitian ini adalah kadar Antigen TB kuantitatif, pemeriksaan TCM, dan pewarnaan BTA sputum pasien terduga Tuberkulosis paru.

4.4.2. Definisi Operasional Penelitian

Pasien yang diduga menderita TB paru adalah pasien yang dirujuk untuk melakukan pemeriksaan TCM oleh DPJR dengan gejala mengarah ke TB paru yaitu batuk lebih dari 2 minggu, batuk berdarah, atau demam lebih dari 2 minggu yang tidak jelas sebabnya, penurunan berat badan, status gizi kurang, adanya riwayat kontak dengan penderita TB paru, dan *malaise* lebih dari 2 minggu.

Tabel 4.1. Definisi Operasional Penelitian

No.	Variabel	Definisi Operasional	Metode Pengukuran	Hasil yang didapat
1	Antigen TB kuantitatif	Protein immunogen yang disekresikan oleh MTB yang virulen dan hidup. Pada kit yang diteliti kali ini mengukur 3 jenis protein (antigen) yaitu: ESAT6, CFP10 dan MPT64.	Pemeriksaan dengan <i>Quantitative TB Ag Rapi JD-Biotech</i> dengan metode <i>Immuno-chromatography</i> dengan 3 jenis antibodi monoklonal tikus untuk mendeteksi antigen ESAT-6, CFP-10, MPT-64, di sputum. <i>Barcode test card</i> terdiri dari <i>band T (test)</i> dan <i>C (control)</i> , pada <i>band T</i> dilapisi oleh <i>anti-TB antibodies secreted antigen protein</i> kelinci. Dan pada <i>band C</i> dilapisi oleh <i>anti-mouse IgG antibody</i> kambing. Jika terdapat antigen, konjugat antibodi akan berikatan dengan antigen dan terbentuk kompleks antigen-antibodi. <i>Barcode test card</i> kemudian akan di masukan ke dalam <i>reader</i> dan hasil berupa konsentrasi protein kuantitatif dalam ng/mL yang didapatkan dari sinyal masing-masing sampel yang dianalisis dengan kurva kalibrasi.	<i>Range</i> deteksi kit setelah dikonversi dengan kurva kalibrator adalah 5-300 ng/mL. Hasil <5 ng/mL di kategorikan sebagai hasil negatif.
2	TCM	Tes cepat molekuler untuk mendiagnosis TB dengan mendeteksi adanya DNA bakteri TB.	GENXPRT dengan prinsip <i>Nucleic acid-based amplification test (NAAT)</i> . Hasil pemeriksaan GENEXPERT berupa <i>cycle threshold (Ct)</i> ; Ct: <i>high</i> , <16; <i>medium</i> , 16–22; <i>low</i> , 22–28; <i>very low</i> , >28. Dengan hasil tambahan berupa adanya resistensi rifampisin (<i>rifampicin resistant detected</i>) yang terdeteksi ataupun tidak terdeteksi (<i>rifampicin resistant not detected</i>).	MTB <i>not detected</i> MTB <i>detected very low</i> MTB <i>detected low</i> MTB <i>detected medium</i> MTB <i>detected high</i>



3	Pewarnaan BTA	Pewarnaan bakteri TB, dimana bakteri TB akan memberikan warna merah bahkan setelah dilarutkan dengan larutan asam alkohol yang terdapat pada pewarnaan ZN	Pewarnaan dengan <i>Ziehl neelsen</i> dan dibaca dengan menggunakan mikroskop. Interpretasi pemeriksaan mikroskopis BTA berdasarkan skala IUATLD	Negatif <i>scanty</i> (laporkan jumlah BTA/100 lapang pandang) 1+, 2+, 3+.
4	Terduga TB	Pasien dengan gejala tuberkulosis yang sputumnya diperiksa pemeriksaan TCM		
5	Nilai Diagnostik (Dahlan, 2011)	<ul style="list-style-type: none"> • Sensitivitas: kemampuan suatu tes untuk menyatakan positif pada orang yang sakit. • Spesifisitas: kemampuan suatu tes untuk menyatakan negatif pada orang yang tidak sakit. • Nilai Duga Positif: mencerminkan probabilitas sakit jika hasil tes dinyatakan positif. • Nilai Duga Negatif: mencerminkan probabilitas tidak sakit jika hasil tes dinyatakan negatif. • Akurasi: kedekatan suatu tes untuk memberikan hasil yang sesungguhnya 	<ul style="list-style-type: none"> • Sensitivitas= $\frac{True\ Positive}{True\ Positive + False\ Negative} \times 100\%$ • Spesifisitas= $\frac{True\ Negative}{True\ Negative + False\ Positive} \times 100\%$ • Nilai Duga Positif= $\frac{True\ Positive}{True\ Positive + False\ Positive} \times 100\%$ • Nilai Duga Negatif= $\frac{True\ Negative}{True\ Negative + True\ negative} \times 100\%$ • Akurasi: $\frac{True\ positive + True\ Negative}{keseluruhan\ pemeriksaan} \times 100\%$ • Nilai ROC: analisis yang digunakan untuk menilai kemampuan tes dengan hasil berskala kontinyu kemudian ditentukan <i>cut-off</i> untuk menyatakan hasil tes positif atau negatif. 	<ul style="list-style-type: none"> • Dianggap nilai sensitivitas, spesifisitas, nilai duga positif, nilai duga negatif, dan akurasi yang baik mendekati 100%. • Interpretasi nilai AUC: <ul style="list-style-type: none"> - 0,5 - 0,6: sangat lemah - 0,6 – 0,7: lemah - 0,7 – 0,8: sedang - 0,8 – 0,9: baik - 0,9 – 1,0: sangat baik



4.5. Alat dan Bahan Penelitian

Alat dan bahan yang diperlukan pada penelitian kali ini yaitu:

1. Kit pemeriksaan dari *Quantitative TB Ag Rapid JD-Biotech* yang termasuk didalamnya yaitu *barcode test card (cassette) TB Ag, sample buffer, dropper, extraction tube* dengan *microbeads*, dan *sample tube*
2. *Reader* berupa *software* yang sudah terintegrasi dengan komputer
3. *Vortex* atau *mixer*
4. Sentrifugator
5. Inkubator
6. Pipet dan *disposable pipet tip*
7. Masker N95 dan *handscoen*

4.6. Cara Pemeriksaan dan Pemantapan Mutu

4.6.1 Cara pemeriksaan TB Antigen Kuantitatif

Pemeriksaan menggunakan *cassette Quantitative TB Ag Rapid JD-Biotech* dengan metode ICT, terbagi menjadi proses persiapan sampel dan proses pemeriksaan. Dengan prosedur persiapan sampel sebagai berikut:

- masukkan 300-500 mikroliter sputum ke dalam tabung ekstraksi (setiap tabung berbentuk "V" dan mengandung *magnetic beads* berukuran 2,38 mm yang bertujuan mempermudah menghomogenkan sputum terutama yang memiliki konsistensi sangat purulen, sehingga meningkatkan kemampuan deteksi alat) tambahkan 1,5 ml *sample buffer* dengan perbandingan 1 sampel : 5 *sample buffer*.
- sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit
- buang supernatan
- gunakan *vortex* atau *mixer* untuk mencampur cairan pada dasar tabung



- tambahkan 100 ul sampel *buffer* dan 100 ul sampel sedimen ke dalam tabung ekstraksi

- campur dengan baik selama 10-20 detik
inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit

Prosedur pemeriksaan antigen TB kuantitatif adalah sebagai berikut:

- Sampel dikondisikan pada suhu ruang sebelum di gunakan
- Keluarkan *barcode test card* dari pembungkus pada tempat yang kering, bersih, dan datar
- Pipet 45 ul atau 4 tetes campuran sampel dan *buffer* yang telah diinkubasikan pada suhu 37°C selama 30 menit ke dalam lubang sampel "S"
- Setelah 30 detik, tambahkan 25 ul atau 1 tetes sampel *buffer* ke dalam lubang sampel "S" dan tunggu hingga 30 menit
- Setelah 30 menit masukkan *barcode test card* ke dalam *reader* untuk pembacaan konsentrasi *protein secreted* dalam sampel
- Pembacaan harus dilakukan dalam 30 menit
- Prinsip pembacaan dalam *reader*.

Hitung rata-rata nilai sinyal reaksi Tb Ag untuk setiap rangkaian referensi kalibrator dan kontrol yang terpasang pada *barcode* setiap *cassette*. Yang menyusun kurva kalibrator dengan memplotkan rata-rata nilai sinyal reaksi yang diperoleh untuk setiap referensi kalibrator terhadap konsentrasinya dalam satuan (ng/ml) pada kertas grafik linier, dengan nilai sinyal reaksi pada sumbu vertikal dan konsentrasi pada horizontal (x) sumbu. (Cara pemeriksaan di sadur dari *insert kit Quantitative TB Ag Rapid JD-Biotech*)

Tabel 4.2. Kurva Kalibrator hasil TB Ag Kuantitatif dalam ng/mL (disadur dari insert kit *Quantitative TB Ag Rapid JD-Biotech*)

TB Ag	Cal. (ng/mL)	T raw
Cal 1	0	1.825
Cal 2	4	2.825
Cal 3	25	6.075
Cal 4	150	32.875
Cal 5	300	50.150

Sebelum penelitian ini dilakukan alat *reader* dan kit sudah dilakukan proses pemantapan mutu terlebih dahulu. Pemantapan mutu dilakukan dengan menggunakan kaset kontrol dan kalibrator.

4.6.2 Pemeriksaan Mikroskopis dengan Pewarnaan BTA

Pemeriksaan mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan *Ziehl-Neelsen*, berikut adalah langkah pewarnaan *Ziehl-Neelsen*: (Angra et al., 2007)

- Sediaan yang sudah difiksasi diletakan pada rak pewarnaan dengan hapusan sputum menghadap keatas
- Teteskan larutan *carbol fuchsin* 0,3% pada hapusan dahak sampai menutupi seluruh permukaan sediaan selanjutnya dipanaskan dengan api spiritus sampai keluar uap selama 3-5 menit.
- Bilas dengan air yang mengalir pelan sampai zat warna terbuang lalu teteskan dengan asam alkohol (HCL alkohol 3%) sampai warna merah *fuchsin* menghilang.
- Bilas dengan air yang mengalir pelan lalu teteskan larutan *metylen blue* 0,3% pada sediaan sampai menutupi seluruh permukaan dan diamkan 10-20 detik lalu bilas dengan air mengalir pelan kemudian keringkan sediaan diatas rak pengering di udara yang terbuka.
- Pembacaan dilakukan dengan mikroskop menggunakan lensa objektif pembesaran 100x dan minyak emersi.



4.6.3 Pemeriksaan Tes Cepat Molekuler

Pemeriksaan TCM dengan *Xpert MTB/RIF* merupakan metode deteksi molekuler berbasis *nested real-time PCR* untuk diagnosis TB. Cara pemeriksaannya adalah (Kementerian Kesehatan RI, 2015):

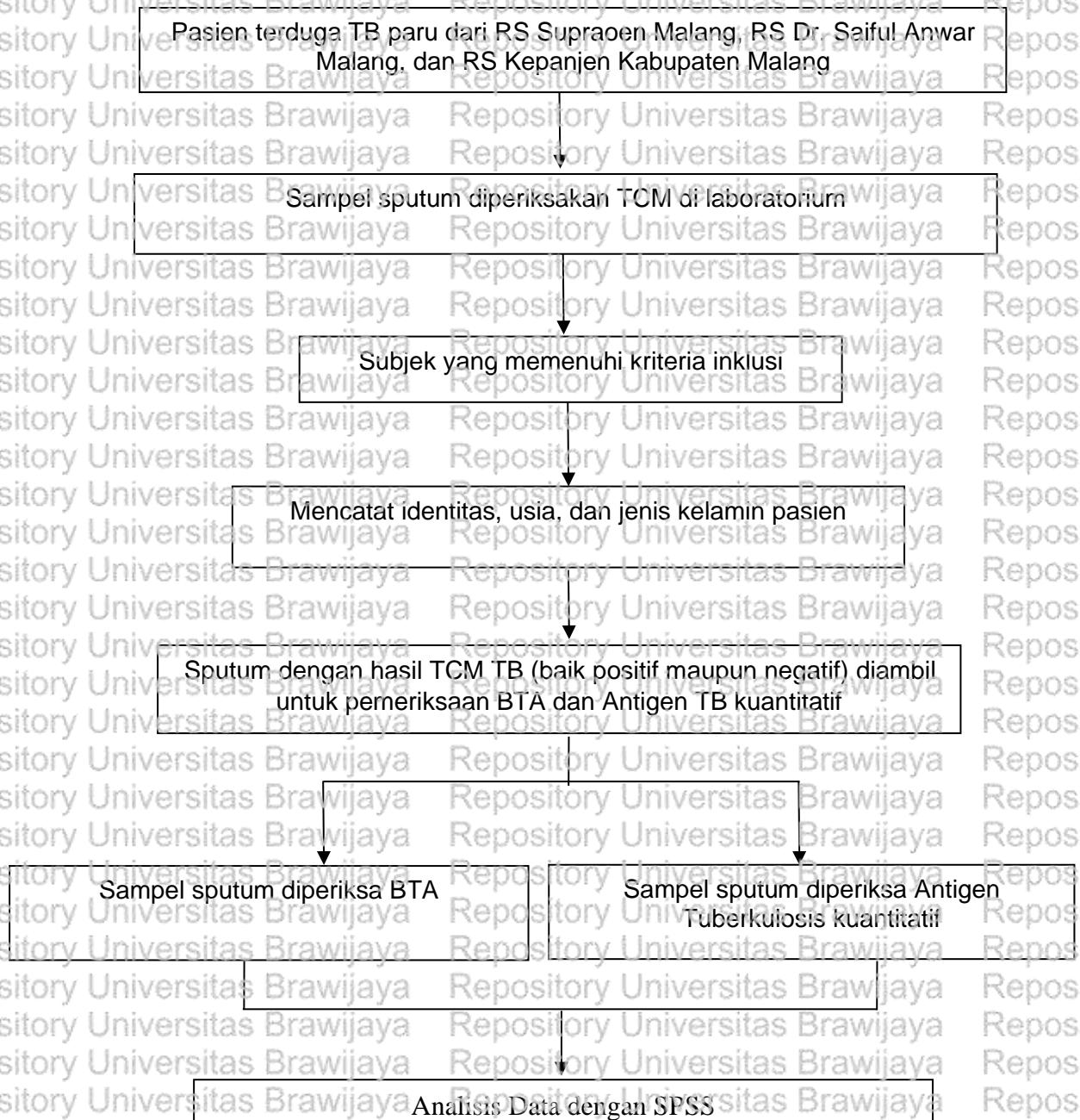
- Beri label identitas pada setiap *cartridge*. Identitas spesimen dapat ditempel atau ditulis pada bagian sisi *cartridge*.
- Bukalah penutup pot dahak, tambahkan *sample buffer* dengan perbandingan 1 bagian volume sampel dan 2 bagian volume *sample buffer* yang tersedia.
- Tutup kembali pot dahak, kemudian kocok dengan kuat sampai campuran dahak dan *sample buffer* menjadi homogen.
- Diamkan selama 10 menit pada suhu ruang.
- Kocok kembali campuran, lalu diamkan selama 5 menit.
- Bila masih ada gumpalan, kocok kembali agar campuran dahak dan *sample buffer* homogen dan biarkan selama 5 menit pada suhu kamar.
- Buka penutup *cartridge* dan pot dahak. Gunakan pipet yang disediakan untuk memindahkan spesimen dahak yang telah diolah sebanyak 2 ml (sampai garis batas pada pipet) ke dalam *cartridge* secara perlahan-lahan untuk mencegah terjadinya gelembung yang bisa menyebabkan *error*.
- Tutup *cartridge* secara perlahan dan masukan ke dalam mesin *GeneXpert*.

4.7. Persetujuan Penelitian

Penelitian ini telah mendapat Kelaikan Etik (*Ethical clearance*) dari komisi etik penelitian kesehatan fakultas kedokteran Universitas Brawijaya tertanggal 23 Juli 2019 dengan nomor 208 / EC / KEPK – PPDS / 07/ 2019.



4.8. Alur Penelitian



4.9. Analisis Data

Pengolahan data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan Software *Statistical Producta and Service Solution 25 PS (SPSS 25 PS) for Windows* dengan tingkat signifikansi 0,05 ($p < 0,05$) dan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

Analisa uji statistik yang akan dilakukan ialah sensitifitas, spesifisitas, nilai duga positif, nilai duga negatif, kadar antigen TB pada kelompok TB dan non TB.



BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1. Karakteristik Subjek Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada Juli 2019 sampai Desember 2019 dengan jumlah subjek penelitian sebanyak 96 orang. Jenis kelamin subjek penelitian terdiri dari 50 orang laki-laki dan 46 orang perempuan. Distribusi berdasarkan kelompok pasien adalah 18 pasien kelompok TB dan 78 kelompok nonTB (tabel 5.1).

Dari pemeriksaan TCM didapatkan hasil positif sebanyak 18 (18,8%), dengan rincian MTB *detected low* 5 (5,2%), *medium* 10 (10,4%), *high* 3 (3,3%), dan 2 hasil pemeriksaan dengan terdeteksinya resistensi terhadap rifampisin. Sedangkan dari hasil pewarnaan BTA didapatkan 17 (17,8%) hasil positif dengan 1+ sebanyak 10 (10,4%) pemeriksaan, 2+ berjumlah 5 (5,2%) pemeriksaan, dan 3+ berjumlah 2 (2,2%) (tabel 5.2).

Tabel 5.1. Karakteristik Subjek Berdasarkan Jenis Kelamin, Usia dan Kelompok Pasien

Karakteristik	Kategori	N	TB		NonTB n= 78	Nilai p
			n= 18			
Usia (Mean±SD)	≤ 18 tahun	3	45,41 ± 17,95	51,01±18,30	0,257 [^]	
	> 18 tahun	93				
Jenis Kelamin	Laki-laki	50	11 (61,1%)	39 (50%)	0,395 [#]	
	Perempuan	46	7 (38,9%)	39 (50%)		

Keterangan: [^]: Uji *Independent T-Test*, [#]: Uji *Chi Square*, *: Signifikan bila $p < 0,05$

Hasil pemeriksaan Antigen TB kuantitatif dapat dilihat pada tabel 5.3, dimana kadar antigen TB kuantitatif pada kelompok subjek dengan TCM positif memiliki median kadar yang lebih tinggi (22,55 ng/mL) jika dibandingkan kelompok TCM negatif (0,001 ng/mL)



Tabel 5.2. Hasil Pemeriksaan TCM dan BTA

Hasil Pemeriksaan	Positif	Negatif	P Value
TCM	18 (18,8%)	78 (81,2%)	0,000 ^{∞*}
Rincian hasil TCM	<i>Low detection: 5 (5,2%)</i> <i>Medium detection: 10 (10,4%)</i> <i>High detection: 3 (3,3%)</i> <i>Rifampicin resistance detected: 2</i> <i>Rifampicin resistance not detected: 16</i>		
BTA	17 (17,8%)	79 (82,2%)	0,000 ^{∞*}
Skala IUATLD BTA	1+: 10 (10,4%) 2+: 5 (5,2%) 3+: 2 (2,2%)		

[∞]: Uji Mann Whitney, *: Signifikan bila $p < 0,05$

Tabel 5.3. Hasil Kadar Antigen TB Kuantitatif berdasarkan Hasil TCM

Hasil Antigen TB	TCM (+)	TCM (-)	Nilai p
Antigen TB Positif (≥ 5 ng/mL) n=36 (37,5%)	16	20	0,000 ^{^*}
Negatif (< 5 ng/mL) n=60 (62,5%)	1	59	
Kadar Antigen TB Kuantitatif (ng/mL) Median (Q1-Q3)	22,55 (9,635-106,9)	0,001 (0,001-1,35)	0,000 ^{∞*}

Keterangan: [^]: Uji X², [∞]: Uji Mann Whitney, *: Signifikan bila $p < 0,05$

5.2. Analisis Data Penelitian

Sebelum melakukan analisis statistik penelitian perlu dilakukan uji normalitas untuk menentukan pengujian parametrik atau non parametrik. Untuk melakukan uji normalitas data penelitian dapat dilakukan uji Kolmogorov-Smirnov atau Saphiro-Wilk. Pada penelitian ini digunakan SPSS versi 25.0 untuk melakukan analisis terhadap variabel dalam penelitian. Dalam uji Kolmogorov-Smirnov, kriteria keputusan adalah jika nilai Sig. atau nilai $p > 0,05$, maka data terdistribusi normal. Berdasarkan uji Kolmogorov-Smirnov didapatkan $p < 0,05$ sehingga



menunjukkan bahwa data kadar Antigen Tuberkulosis kuantitatif tidak terdistribusi normal, maka dilakukan transformasi ke dalam bentuk algoritma. Hasil uji Kolmogorov-Smirnov data kadar Antigen Tuberkulosis kuantitatif setelah ditransformasi nilai Sig. atau p tetap $<0,05$, maka uji statistik yang digunakan untuk analisis variabel penelitian ini adalah uji non parametrik (Dahlan, 2011).

5.3. Uji Kesepakatan Kappa TB Antigen Kuantitatif dan BTA dengan TCM

Hasil uji kesepakatan Kappa (*Kappa agreement*) antara TB antigen kuantitatif dan BTA terhadap TCM terdapat pada tabel 5.2. Hasil uji kesepakatan Kappa antara Antigen TB kuantitatif dengan TCM sebesar 0,506 dan Antigen TB kuantitatif dengan BTA sebesar 0,458. Keduanya merupakan kesepakatan sedang (*moderate*), sedangkan kesepakatan Kappa antara BTA dan TCM sebesar 0,931 menandakan kesepakatan hampir sempurna (*almost perfect*), dengan $p < 0,05$.

Tabel 5.4. Uji Kesepakatan Kappa Antigen TB Kuantitatif dan BTA dengan TCM

Variabel	Kappa Agreement	Approximate Significance
TB antigen	0,506	0,000*
BTA	0,931	0,000*

Keterangan *: Signifikan bila $p < 0,05$

Tabel 5.5. Uji Kesepakatan Kappa Antigen TB dengan BTA

Variabel	Kappa Agreement	Approximate Significance
TB antigen	0,458	0,000*

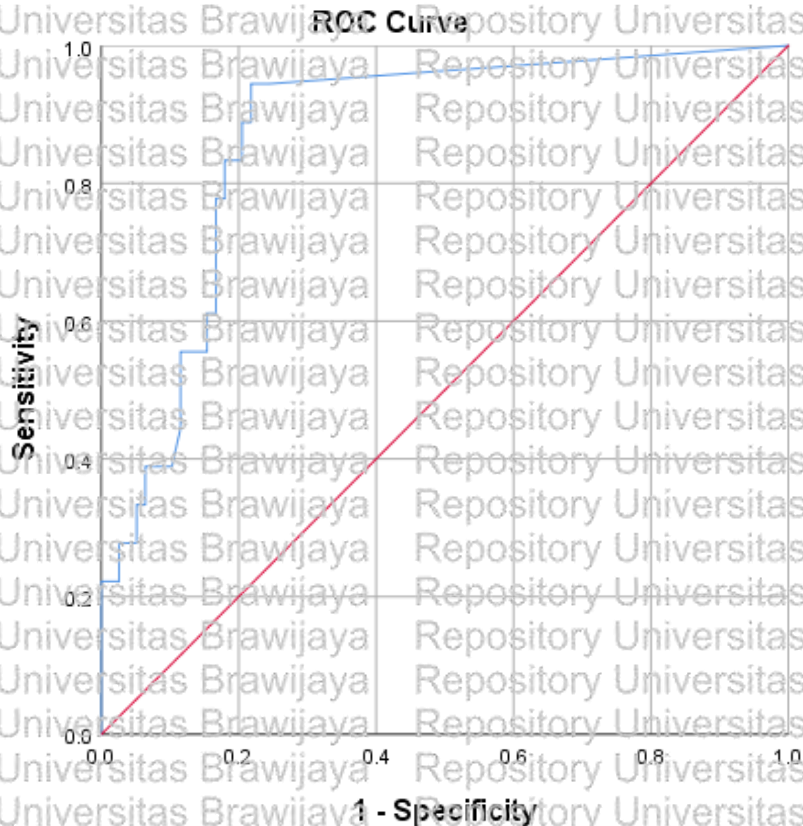
Keterangan *: Signifikan bila $p < 0,05$



5.4. Performa Diagnostik Antigen TB Kuantitatif melalui Kurva ROC

5.4.1. Kurva ROC Antigen TB untuk Diagnosis TB dibandingkan TCM

Uji performa diagnostik antigen TB kuantitatif dan BTA menggunakan kurva ROC dengan referensi pemeriksaan TCM. Pada gambar 5.1 didapatkan kurva ROC dari hasil TB antigen kuantitatif dibandingkan dengan hasil TCM.



Gambar 5.1. Kurva ROC Antigen TB Kuantitatif dibandingkan TCM

Dari kurva pada gambar 5.1 didapatkan nilai AUC dari kadar Antigen TB kuantitatif terhadap TCM adalah 0,867 dengan 95% *Confidence Interval* (CI) adalah 0,781–0,953 dan nilai $p < 0,05$. Nilai AUC dari antigen TB kuantitatif adalah 0,867 dan nilai ini termasuk nilai AUC yang baik. Hal ini ditunjukkan pada gambar 5.1 sebagai luasan daerah di bawah kurva ROC (di bawah garis biru)



Tabel 5.6. Nilai AUC Antigen TB Kuantitatif dibandingkan TCM

Variabel	AUC	Nilai p	Interval Kepercayaan 95%	
			Minimum	Maksimum
Antigen Kuantitatif	TB 0,867	0,000*	0,784	0,954

*: Signifikan bila $p < 0,05$

5.4.2. Penentuan *Cut Off* Optimal Antigen TB Kuantitatif

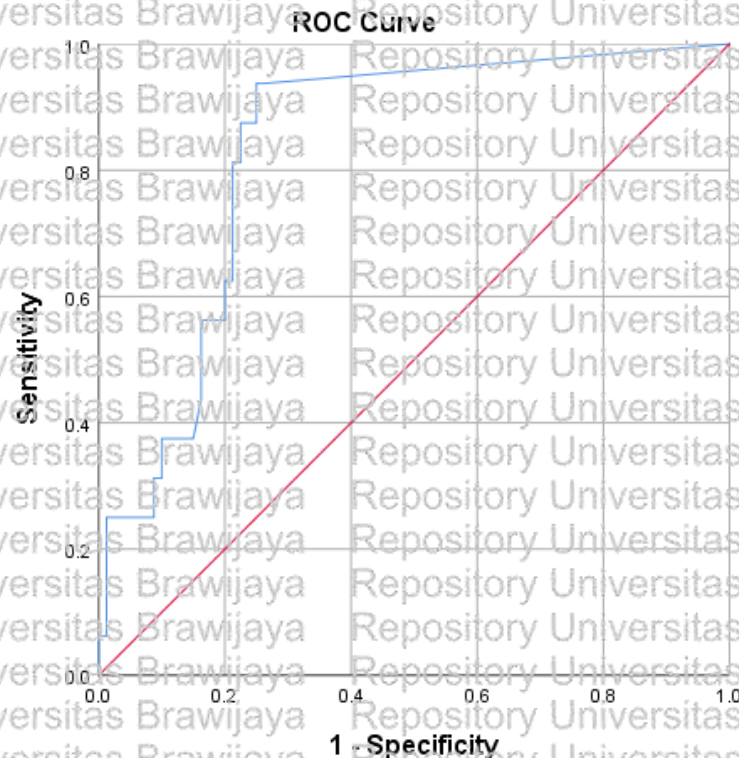
Hasil AUC TB antigen kuantitatif jika dibandingkan dengan BTA sebesar 0,834 (tabel 5.6) dengan $p < 0,05$ dengan interval kepercayaan 95% 0,739-0,930.

Tabel 5.7. Nilai AUC Antigen TB Kuantitatif dibandingkan BTA

Variabel	AUC	Nilai p	Interval Kepercayaan 95%	
			Minimum	Maksimum
Antigen Kuantitatif	TB 0,834	0,000*	0,739	0,930

Keterangan *: Signifikan bila $p < 0,05$

Dari kurva ROC pada gambar 5.1 diambil *cut off optimum* antigen TB kuantitatif yaitu 8,36 ng/mL. Berdasarkan Tabel 5.8 maka dapat ditentukan 5 nilai diagnostik Antigen TB kuantitatif, yaitu nilai sensitivitas, nilai spesifitas, nilai duga positif, nilai duga negatif, dan akurasi. Dari hasil tabel 2x2 di atas maka diperoleh nilai sensitivitas adalah 88,88%, nilai spesifitas 80,77%, nilai duga positif 51,61%, nilai duga negatif 96,92% dan nilai akurasi diperoleh 82,30%.



Gambar 5.2. Kurva ROC Antigen TB Kuantitatif dibandingkan BTA

Tabel 5.8. Tabel 2x2 TB Antigen berdasarkan Kelompok Subjek

Hasil TB Antigen	Hasil TCM		Total
	Positif	Negatif	
Positif	16	15	31
Negatif	2	63	65
Total	18	78	96

Dari kurva ROC pada gambar 5.2 diambil *cut off optimum* TB antigen kuantitatif juga sebesar 8,36 ng/ml. Berdasarkan Tabel 5.9 dapat ditentukan 5 nilai diagnostik pemeriksaan TB Antigen kuantitatif jika dibandingkan dengan pemeriksaan BTA, yaitu nilai sensitivitas, nilai spesifitas, nilai duga positif, nilai duga negatif, dan akurasi. Dari hasil tabel 2x2 di atas maka diperoleh nilai sensitivitas adalah 88,24%, nilai spesifitas 79,75%, nilai duga positif 48,38%, nilai duga negatif 96,92% dan nilai akurasi diperoleh 81,25%.



Tabel 5.9. Tabel 2x2 TB Antigen Kuantitatif berdasarkan BTA

Hasil TB Antigen	Hasil BTA		Total
	Positif	Negatif	
Positif	15	16	31
Negatif	2	63	65
Total	17	79	96



BAB VI PEMBAHASAN

6.1. Karakteristik Subjek Penelitian

Total subjek penelitian adalah 96 orang, dengan 50 subjek laki-laki dan 46 subjek perempuan, total subjek yang terdiagnosis TB adalah 18 subjek, dengan 11 (61,1%) subjek TB adalah laki-laki dan 7 (38,9%) subjek TB adalah perempuan (tabel 5.1). Tidak terdapat perbedaan signifikan antara kelompok pasien (TB dan nonTB) berdasarkan usia dan jenis kelamin. Pada penelitian kali ini didapatkan jumlah penderita TB laki-laki lebih banyak jika dibandingkan dengan perempuan, namun tidak berbeda secara signifikan. Dikatakan secara global maupun di Indonesia angka penderita TB laki-laki lebih tinggi 1,4-3x daripada perempuan yang dikaitkan dengan adanya kebiasaan merokok dan kemungkinan terpapar serta predisposisi gender. (Nhamoye-bonde and Leslie, 2014)

Jenis kelamin laki-laki memiliki predisposisi untuk menjadi penderita TB. Terdapat 9 gen yang terkait yaitu IKBKB dan CYBB, yang bersifat *X-linked* dan hanya terdapat pada pria, dengan kecenderungan terhadap infeksi *Mycobacteria*. Meskipun polimorfisme gen ini jarang terjadi namun diduga berhubungan dengan imunitas terhadap TB. Kromosom X memiliki 1100 gen yang mayoritas merupakan imunomodulator, jika dibandingkan dengan hanya 100 gen pada kromosom Y. (Nhamoye-bonde and Leslie, 2014).

Sejak tahun 2010, WHO merekomendasikan penggunaan TCM sebagai pemeriksaan awal untuk diagnosis TB terutama pada MDR-TB dan HIV-TB. Dan berdasarkan keputusan dari Kementerian Kesehatan Indonesia nomor 67 tahun 2016, TCM telah dipergunakan secara luas tidak hanya untuk mendiagnosa MDR-TB ataupun TB-HIV, tetapi juga untuk diagnosis kasus TB secara umum. Beberapa

penelitian juga mengatakan sensitivitas dan spesifisitas TCM yang sangat baik yaitu 93 dan 98,3% dalam diagnosis TB paru (Singh et al., 2016)

Dari hasil penelitian didapatkan 1 hasil dengan BTA menunjukkan hasil negatif sedangkan TCM memberikan hasil positif, hal ini disebabkan oleh batas deteksi BTA yang membutuhkan lebih banyak bakteri jika dibandingkan dengan TCM untuk memberikan hasil positif, yaitu $1 \times 10^4 - 10^5$ CFU/mL sputum dibandingkan dengan TCM yang membutuhkan 131 CFU/mL sputum untuk memberikan hasil positif. (Marlowe et al., 2011a) Hasil ini memberi implikasi bahwa pemeriksaan BTA memiliki keterbatasan jika dibandingkan dengan pemeriksaan TCM dalam sensitivitas.

Keterbatasan pemeriksaan BTA inilah yang mendasari digunakannya TCM dan BTA sebagai referensi pada penelitian ini, yaitu dengan membandingkan antigen TB kuantitatif dengan TCM dan pemeriksaan BTA, dengan harapan TB Antigen kuantitatif dapat mendeteksi bakteri dengan jumlah yang lebih sedikit dari pemeriksaan BTA sehingga dapat menggantikan pemeriksaan BTA di tempat yang belum tersedia TCM.

Kemampuan diagnostik dari TB antigen kuantitatif dianalisa dalam bentuk AUC, sensitivitas, spesifisitas, *cut off optimal*, PPV, NPV dan menganalisis korelasi antara kadar antigen TB kuantitatif dengan nilai deteksi dari TCM (*high, low, dan intermediate*) serta BTA berdasarkan IUATLD.

6.2. Performa Diagnostik Antigen TB Kuantitatif

6.2.1. Analisis Perbedaan

Pada penelitian ini pasien TB dan nonTB dikelompokkan berdasarkan hasil TCM, dimana TCM positif dikatakan sebagai kelompok TB dan TCM negatif dikelompokkan sebagai nonTB. Kadar TB antigen kuantitatif dibandingkan antara kelompok TB dan nonTB. Hasil uji komparatif dengan *Independent T-test* pada

keadar TB antigen kuantitatif dalam 2 kelompok pasien (TB dan nonTB) hasil yang berbeda secara signifikan $p < 0,05$.

Ketiga jenis antigen yang digunakan dalam penelitian kali ini merupakan tiga protein yang paling banyak ditemukan dari hasil kultur MTB dan yang paling banyak diteliti yaitu MPT-64, CFP-10, dan ESAT-6. Dimana ketiga protein ini hanya disekresikan oleh MTB dan tidak pada strain BCG serta hanya disekresikan oleh MTB yang virulen dan hidup. (Peng and Sun, 2016)

Pemeriksaan TCM mendeteksi MTBC berdasarkan materi asam nukleat yang diamplifikasi dengan teknik PCR. (Kurniawan and Arsyad, 2016) Hasil uji komparatif yang menunjukkan perbedaan bermakna hasil Antigen TB kuantitatif pasien dengan TCM positif (kelompok TB) dan TCM negatif (kelompok nonTB) menunjukkan bahwa ketiga antigen TB disekresikan oleh MTB di dalam sputum sampel dengan TCM positif. Dan MTBC yang terdeteksi melalui pemeriksaan TCM adalah MTBC yang virulen dan hidup. (Cao et al., 2021)

6.2.2. Analisis *Kappa Agreement*

Analisis Kappa digunakan untuk menganalisis kesepakatan (*agreement*) antara dua metode pemeriksaan atau 2 penilaian (2 juri atau 2 peneliti) untuk mendiagnosis adanya suatu penyakit atau tidak. Sumber lain mengatakan kesepakatan Kappa digunakan untuk menguji dua metode yang diharapkan memiliki hasil yang sama (sepakat). (Watson and Petrie, 2010) Penelitian yang disusun secara baik seharusnya memiliki kesepakatan yang baik antara berbagai parameter. Berdasarkan Landis dan Koch indeks kesepakatan Kappa memiliki rentang (-1) – (+1), dimana angka (+1) menunjukkan kesepakatan yang sempurna.

Angka ≤ 0 sebagai tidak ada kesepakatan, 0,01-0,20 sebagai *slight agreement*, 0,21-0,40 sebagai *fair*, 0,41-0,60 sebagai *moderate*, 0,61-0,80 sebagai



substansial, dan 0,31-1,00 sebagai *almost perfect agreement*. (Carpentier et al., 2017)

Semakin besar kesepakatan Kappa diartikan semakin baik karena data yang salah dihitung berdasarkan rumus $1 - (\text{angka kesepakatan kappa})$, yang didapat dalam bentuk persen. Kesepakatan Kappa 0,40 dianggap sebagai angka terendah yang dapat digunakan dalam laboratorium klinik. (Watson and Petrie, 2010)

Pada penelitian kali ini didapatkan hasil kesepakatan Kappa antara TB Antigen dan TCM sebesar 0,506; indeks kesepakatan antara TB antigen dan BTA sebesar 0,458 yang menunjukkan kesepakatan *moderate*. Hasil Kesepakatan Kappa antara BTA dan TCM menunjukkan hasil hampir sempurna (*kappa index*= 0.931), dengan ketiga hasil signifikan secara statistik. Penelitian sebelumnya yang menggunakan TB antigen dibandingkan dengan kultur TB dilakukan oleh Nazarudin pada tahun 2015 dengan hasil kesepakatan antara TB antigen dan kultur sebesar 0.860. (Nazarudin and Nugraha, 2015)

Hasil kesepakatan Kappa yang menunjukkan hasil *moderate* pada penelitian kali ini kemungkinan disebabkan lebih banyak hasil TB antigen yang positif jika dibandingkan dengan hasil TCM maupun BTA (terdapat hasil yang berbeda 49,4% diantara metode TCM dengan TB Antigen dan 53,2% antara BTA dan TB Antigen).

Dengan angka kesepakatan diatas 0,40 maka dapat disimpulkan bahwa hasil penelitian ini dapat digunakan pada laboratorium klinik

6.2.3. Analisis Kurva ROC dan *Cut-off* TB Antigen Kuantitatif

Penelitian kali ini mengkuantifikasi hasil ICT kadar Antigen TB dengan kadar median antigen TB kuantitatif pada pasien TB (22,551; Q1-Q3 = 9,635-106,900) secara signifikan lebih tinggi dibandingkan kelompok nonTB (0,001; Q1-Q3= 0,001-1,35) dengan $p < 0,05$ (tabel 5.1). Hal ini menunjukkan bahwa kadar antigen



TB (MPT-64, ESAT-6 dan CFP-10) ditemukan dengan kadar yang lebih tinggi pada sampel sputum pasien dengan TB dibandingkan nonTB.

Penelitian yang meneliti kadar MPT 64 dengan metode *sandwich* ELISA mendapatkan hasil deteksi 2,1 ng/mL hingga 250 ng/mL (setara $1,7 \times 10^4$ CFU/mL - 2×10^6 CFU/mL). (Ji et al., 2014) Penelitian Shen yang menggunakan ICT dengan 2 antibodi monoklonal (terhadap ESAT-6 dan CFP-10) untuk mengidentifikasi isolat MTB dari hasil kultur mendapatkan hasil diperlukan sedikitnya 3×10^4 - 3×10^9 CFU/mL untuk mendapatkan hasil ICT yang positif. (Shen et al., 2011)

Penelitian mengenai Antigen TB kuantitatif dengan metode ICT sampai sejauh ini masih belum ada. Pada penelitian kali ini didapatkan kadar terendah antigen TB sebesar 5,389 ng/mL, sedangkan yang tertinggi adalah 146,105 ng/mL. Hal ini sesuai dengan range hasil TB Antigen kuantitatif sebesar 5-300 ng/mL yang disadur dari insert kit TB Antigen kuantitatif.

Pada data kadar antigen TB kuantitatif dengan kurva ROC dan AUC didapatkan nilai *cut-off* adalah 8,36 ng/mL. Dengan nilai AUC 0,867 (95% CI 0,784 - 0,954) dan nilai $p < 0,05$ (gambar 5.2). Nilai AUC 0,867 termasuk dalam nilai yang baik. (AUC 0,8-0,9 termasuk dalam AUC yang baik). Nilai 0,867 ditunjukkan sebagai luas daerah dibawah kurva ROC. (Dahlan, 2011)

Pada tabel 5.7 menunjukkan parameter diagnostik yaitu nilai sensitivitas, spesifisitas, nilai duga positif, nilai duga negatif, dan akurasi. Dalam penelitian ini, dengan kadar Antigen TB kuantitatif sebesar 8,36 ng/mL jika dibandingkan dengan TCM memiliki sensitivitas 88,83%, spesifisitas 80,77%, nilai duga positif 51,61%, nilai duga negatif 96,92% dan nilai akurasi diperoleh 82,30%.

Pemeriksaan antigen TB dengan metode ICT yang mendeteksi gabungan 3 antigen (ESAT-6, MPT-64, dan CFP-10) dan tidak hanya salah satu antigen bertujuan untuk meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas diagnosis Tuberkulosis.

Dari beberapa penelitian didapatkan metode ini memiliki sensitivitas dan



spesifisitas yang cukup baik untuk diagnosis TB paru dengan sampel sputum. Penelitian Gustiani mendapatkan hasil sensitivitas dan spesifisitas ICT antigen TB kualitatif dengan 3 antigen yang dideteksi masing-masing adalah 95,7% dan 87,2%. (Gustiani et al., 2014) Penelitian lain dengan sampel hasil kultur dari media MGIT menghasilkan sensitivitas 97% dan spesifisitas 97,4%. (Shen et al., 2011) Kedua penelitian tersebut hanya mengukur pemeriksaan ICT secara kualitatif berdasarkan ada tidaknya hasil positif pada *band* T pada kaset ICT, dan tidak mengukur kadarnya secara kuantitatif.

Sensitivitas penelitian kali ini didapat sebesar 88,88%, hal ini disebabkan adanya hasil negatif palsu, berdasarkan penelitian Brent yang menggunakan ICT dengan antibodi terhadap MPT-64 dan penelitian berbasis PCR menyimpulkan bahwa hasil negatif palsu ICT TB disebabkan oleh adanya mutasi pada gen yang mengkode MPT-64. (Brent et al., 2011) Penelitian kali ini menggunakan 3 jenis antigen Tuberkulosis, apakah hasil negatif pada penelitian kali ini terjadi akibat mutasi pada ketiga gen yang mengkode antigen TB masih belum diketahui.

Kemungkinan lain yaitu kadar antigen TB yang berada di bawah batas deteksi alat pada penelitian kali ini, mengingat hasil yang negatif palsu menunjukkan kadar MTB yang rendah (*MTB detected low*). Batas deteksi untuk TCM adalah 131 CFU/mL, sedangkan batas deteksi Antigen TB kuantitatif adalah 5ng/mL, setara dengan 1×10^4 CFU/mL. (Singh et al., 2016)

Penyebab lain hasil TB Antigen negatif sedangkan TCM dan BTA positif yaitu MTB yang terdeteksi pada pemeriksaan TCM dan BTA tidak dalam bentuk yang hidup ataupun *viable*. Pemeriksaan BTA dan TCM dapat mendeteksi MTB baik yang sudah mati maupun yang masih hidup, sedangkan antigen TB (ESAT-6, CFP-10, dan MPT-64) hanya disekresikan oleh MTB yang hidup dan *viable*. (Ji et al., 2014)



Selain adanya hasil negatif palsu, terdapat 1 hasil dimana BTA menunjukkan hasil negatif TCM positif (MTB detected low), dan TB Antigen kuantitatif menunjukkan hasil positif. Hal ini kemungkinan disebabkan rendahnya jumlah MTB dalam sputum (batas deteksi TB antigen adalah 10^4 CFU/mL sedangkan BTA adalah 10^4 - 10^5 CFU/mL) (Marlowe et al., 2011) menunjukkan bahwa TB Antigen kuantitatif dapat digunakan untuk meridiagnosis pada subjek terduga tuberkulosis tetapi hasil pewarnaan BTA negatif dan TCM tidak tersedia, tetapi hal ini perlu dibuktikan dengan penelitian dengan jumlah sampel yang lebih besar lagi.

Penelitian Brent menyimpulkan hasil positif palsu dari ICT antigen TB (yang mendeteksi ESAT-6 dan CFP-10) disebabkan adanya spesies *Mycobacterium* selain MTBC atau disebut juga sebagai *NonTuberculosis Mycobacterium* (NTM) seperti *M. kansasii*, *M. avium complex*, *M. chelonae*, dan *M. goodii*. (Brent et al., 2011) Spesifisitas penelitian kali ini sebesar 80,77% dapat disebabkan oleh hasil positif palsu akibat adanya spesies NTM yang terdeteksi pada sputum yang diteliti.

Penyebab lain yaitu sensitivitas pemeriksaan TCM dan pewarnaan BTA jika dibandingkan dengan kultur sebesar 93% dan 73%, maka ada kemungkinan hasil TCM maupun BTA pasien adalah negatif palsu (adanya kemungkinan bahwa pemeriksaan Antigen TB kuantitatif dapat mendeteksi MTB yang tidak terdeteksi oleh TCM maupun pewarnaan BTA (hasil TB antigen adalah benar positif)).

Kasus TB dapat dibagi menjadi dua, yaitu kasus TB yang didiagnosis secara bakteriologis dan kasus TB yang didiagnosis secara klinis. Kasus TB yang didiagnosis secara klinis didefinisikan sebagai pasien TB dugaan yang didiagnosis oleh dokter atau praktisi medis, biasanya berdasarkan radiografi dada abnormal, kasus ekstrapulmoner, histologi sugestif dan tanda-tanda klinis seperti batuk kronis, demam, keringat malam dan penurunan berat badan, tetapi tidak dikonfirmasi secara bakteriologis. (Abdullahi et al., 2021) Hasil positif palsu pada



penelitian kali ini perlu disertai dengan data klinis dan radiologis dari pasien, jika hasil radiologis dan klinis pasien mendukung kearah TB klinis, maka dapat disimpulkan bahwa hasil dapat merupakan suatu *true positive* berdasarkan klinis pasien.

6.3. Implikasi Klinis Antigen Tuberkulosis Kuantitatif

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa Antigen Tuberkulosis kuantitatif memiliki performa diagnostik yang baik dalam diagnosis TB paru. Hal ini memberi implikasi bahwa Antigen Tuberkulosis kuantitatif dapat digunakan sebagai alternatif dalam membantu penegakan diagnosis TB paru.

6.4. Keterbatasan Penelitian

1. Keterbatasan pada penelitian ini diantaranya adalah jumlah kasus yg positif lebih sedikit dibandingkan dengan kasus negatif, serta belum adanya penelitian yang terpublikasi mengenai kuantifikasi antigen TB dengan menggunakan ICT dan reader sehingga sulit untuk mencari acuan serta pembanding.
2. Keterbatasan lainnya adalah tidak adanya data mengenai klinis serta pemeriksaan radiologis pasien, sehingga peneliti sulit menilai apakah pada pasien dengan hasil TB Antigen kuantitatif positif dan TCM negatif memenuhi kriteria klinis Tuberkulosis, jika pada pasien dengan klinis dan radiologis mengarah pada Tuberkulosis maka Antigen TB kuantitatif dapat digunakan untuk menegakan diagnosis pada pasien terduga Tuberkulosis dengan TCM dan pewarnaan BTA negatif.
3. Keterbatasan lainnya yaitu tidak dilakukannya pemeriksaan kualitas sputum pada penelitian kali ini.



BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka dapat disimpulkan:

1. Kadar Antigen TB Kuantitatif pada sampel sputum subjek dengan TB berbeda bermakna dengan nonTB, dengan rerata kadar Antigen TB Kuantitatif lebih tinggi pada individu dengan TB.
2. Antigen TB kuantitatif memiliki AUC 0,867; artinya memiliki nilai diagnosis yang baik dalam diagnosis Tuberkulosis.
3. Antigen TB kuantitatif dengan *cut-off* optimal sebesar 8,36 ng/mL memiliki sensitivitas 88,23%, spesifitas 79,75%, nilai duga positif 48,36%, nilai duga negatif 96,92% dan nilai akurasi 81,25%.

7.2 Saran

1. Penelitian lebih lanjut dengan jumlah subjek yang lebih besar, dan disertai dengan pengujian kualitas sputum, dan menggunakan pemeriksaan kultur sebagai baku emas sebagai pembanding sehingga dapat menilai MTB yang viabel atau tidak.
2. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mendapatkan subjek penelitian dengan proporsi kategori (positif dan negatif) yang sesuai sehingga mendapatkan hasil yang lebih baik lagi.
3. Penelitian lanjutan dengan keterangan klinis pasien untuk membedakan apakah pasien masuk kedalam kategori TB secara klinis.
4. Penelitian lanjutan yang membandingkan kadar Antigen Tuberkulosis yang dideteksi oleh ICT Antigen TB Kuantitatif dan metode ELISA.



5. Antigen TB Kuantitatif memiliki performa yang baik dalam diagnosis TB paru, maka dari itu pemeriksaan ini dapat disarankan untuk digunakan sebagai salah satu metode diagnosis TB paru bila tidak tersedia TCM.



Daftar Pustaka

- Abdullahi, O., Moses, N., Sanga, D., Annie, W., 2021. The effect of empirical and laboratory-confirmed tuberculosis on treatment outcomes. *Scientific Reports* 11.
- Acharya, B., Acharya, A., Gautam, S., Ghimire, S.P., Mishra, G., Parajuli, N., Sapkota, B., 2020. Advances in diagnosis of Tuberculosis: an update into molecular diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis*. *Molecular Biology Reports* 47, 4065–4075.
- Agarwal, S., Caplivski, D., Bottone, E.J., 2005. Antimicrobials Disseminated tuberculosis presenting with finger swelling in a patient with tuberculous osteomyelitis : a case report 4, 6–9.
- Agyeman, A.A., Ofori-Asenso, R., 2017. Tuberculosis—an overview. *Journal of Public Health and Emergency* 1, 7–7.
- Angra, P., Joloba, M., Man, K., Kam, J., 2007. Epidemiology research of pulmonary non-tuberculosis mycobacterial diseases View project Dual Atrioventricular Nodal Pathway View project.
- Arora, J., Kumar, G., Verma, A.K., Bhalla, M., Sarin, R., Myneedu, V.P., 2015. Utility of MPT64 antigen detection for rapid confirmation of mycobacterium tuberculosis complex. *Journal of Global Infectious Diseases* 7, 66–69.
- Azadi, D., Motallebirad, T., Ghaffari, K., Shojaei, H., 2018. Mycobacteriosis and Tuberculosis: Laboratory Diagnosis. *The Open Microbiology Journal* 12, 41–58.
- Blakemore, R., Nabeta, P., Davidow, A.L., Vadwai, V., Tahirli, R., Ruesch-gerdes, S., Leisegang, F., Zamudio, C., Rodrigues, C., Boehme, C.C., 2011. A Multisite Assessment of the Quantitative Capabilities of the Xpert MTB / RIF A Multisite Assessment of the Quantitative Capabilities of the Xpert MTB / RIF Assay.
- Blier, L., Sarrazin, J.F., Thibault, B., Rivard, L., Gula, L., Sit, P.L., Essebag, V., Ph, D., Nery, P.B., Tung, S.K., Raymond, J.M., Sterns, L.D., Veenhuizen, G.D., Healey, J.S., Redfearn, D., Roux, J.F., Tang, A.S.L., 2016. *New England Journal* 111–121.



Bojang, A.L., Mendy, F.S., Tientcheu, L.D., Otu, J., Antonio, M., Kampmann, B., Agbla, S., Sutherland, J.S., 2016. Comparison of TB-LAMP, GeneXpert MTB / RIF and culture for diagnosis of pulmonary tuberculosis in The Gambia. *Journal of Infection* 72, 332–337.

Brent, A.J., Mugo, D., Musyimi, R., Mutiso, A., Morpeth, S., Levin, M., Scott, J.A.G., 2011. Performance of the MGIT TBc identification test and meta-analysis of MPT64 assays for identification of the Mycobacterium tuberculosis complex in liquid culture. *Journal of Clinical Microbiology* 49, 4343–4346.

Cao, X., Li, Y., Wang, J., Zhou, J., Guo, X., 2021. MPT64 assays for the rapid detection of Mycobacterium tuberculosis 1–15.

Carpentier, M., Combescuré, C., Merlini, L., Perneger, T. v., 2017. Kappa statistic to measure agreement beyond chance in free-response assessments. *BMC Medical Research Methodology* 17.

Chae, H., Shin, S.J., 2018. Importance of differential identification of Mycobacterium tuberculosis strains for understanding differences in their prevalence, treatment efficacy, and vaccine development. *Journal of Microbiology* 56, 300–311.

Dahlan, M.S., 2009. Penelitian Diagnostik: Dasar-dasar Teoretis dan Aplikasi dengan Program SPSS dan Stata. Salemba Medika, Jakarta.

Dubey, D., Rath, S., Sahu, M.C., Debata, N.K., Padhy, R.N., 2012. Antimicrobials of plant origin against TB and other infections and Economics of plant drugs – Introspection.

Dunn, J.J., Starke, J.R., Revell, P.A., 2016. Laboratory diagnosis of mycobacterium tuberculosis infection and disease in children. *Journal of Clinical Microbiology* 54, 1434–1441.

Fakri, K., Xia, E., Tan, J.H., Teo, Y.Y., Ong, R.T.H., 2016. In silico region of difference (RD) analysis of Mycobacterium tuberculosis complex from sequence reads using RD-Analyzer. *BMC Genomics* 17, 1–10.



Furin, J., Cox, H., Pai, M., 2019. Tuberculosis. *The Lancet* 393, 1642–1656.

Ganguly, P., Sharma, S., Sharma, P., Ganguly, N., 2015. RD-1 Region of *Mycobacterium tuberculosis*: Protein Secretion and Virulence. *Expert Reviews of Immunology Vaccines and Informatics* 2, 78–83.

Gonzalo-Asensio, J., Marinova, D., Martin, C., Aguiló, N., 2017. MTBVAC: Attenuating the human pathogen of tuberculosis (TB) toward a promising vaccine against the TB epidemic. *Frontiers in Immunology* 8, 1–8.

Gustiani, N., Parwati, I., Tjandrawati, A., Lismayanti, L., 2014. Validitas Pemeriksaan Complex Specific Antigen *Mycobacterium tuberculosis* Region of Difference 1–3 Metode Rapid Immunochromatography pada Sputum Penderita Tuberkulosis Paru. *Majalah Kedokteran Bandung* 46, 241–246.

Iskandar, A., Nursiloningrum, E., Arthamin, M.Z., Olivianto, E., Chandrakusuma, M.S., 2017. The diagnostic value of urine lipoarabinomannan (LAM) antigen in childhood tuberculosis. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 11, EC32–EC35.

Ji, M., Cho, B., Cho, Y.S., Park, S.Y., Cho, S.N., Jeon, B.Y., Yoon, B.S., 2014. Development of a quantitative sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for detecting the MPT64 antigen of *mycobacterium tuberculosis*. *Yonsei Medical Journal* 55, 746–752.

Kementerian Kesehatan RI, 2015a. Petunjuk teknis Pemeriksaan TB Menggunakan GeneXpert.

Khan, M.K. I., Islam, M.M., Ferdous, J., Alam, M.M., 2019. An Overview on Epidemiology of Tuberculosis An Overview on Epidemiology of Tuberculosis (TB) is a and milk products meat from an infected animal like cattle , known as bovine tuberculosis Departnerttrt of Community Mtrttensittglt Medical College (MMC).. *Mymensingh Medical Journal* 28, 259–266.

Kleinnijenhuis, J., Oosting, M., Joosten, L.A.B., Netea, M.G., Crevel, R. van, 2011. Innate Immune Recognition of *Mycobacterium tuberculosis* 2011.



Kumar, V.G.S., Urs, T.A., Ranganath, R.R., 2011. MPT 64 Antigen detection for Rapid confirmation of *M. tuberculosis* isolates. BMC Research Notes 4, 79.

Kurniawan, E., Arsyad, Z., 2016. Nilai Diagnostik Metode "Real Time" PCR GeneXpert pada TB Paru BTA Negatif, Jurnal Kesehatan Andalas

Liu, Z., Qie, S., Li, L., Xiu, B., Yang, X., Dai, Z., Zhang, X., Duan, C., Que, H., Zhao, P., Johnson, H., Zhang, H., Feng, X., 2016. Identification of Novel RD1 Antigens and Their Combinations for Diagnosis of Sputum Smear-/Culture+ TB Patients. BioMed Research International 2016.

Marlowe, E.M., Novak-Weekley, S.M., Cumpio, J., Sharp, S.E., Momeny, M.A., Babst, A., Carlson, J.S., Kawamura, M., Pandori, M., 2011a. Evaluation of the cepheid xpert MTB/RIF assay for direct detection of mycobacterium tuberculosis complex in respiratory specimens. Journal of Clinical Microbiology 49, 1621–1623.

Mokrousov, I., Vyazovaya, A., Iwamoto, T., Skiba, Y., Pole, I., Zhdanova, S., Arikawa, K., Sinkov, V., Umpeleva, T., Valcheva, V., Alvarez Figueroa, M., Ranka, R., Jansone, I., Ogarkov, O., Zhuravlev, V., Narvskaya, O., 2016. Latin-American-Mediterranean lineage of *Mycobacterium tuberculosis*: Human traces across pathogen's phylogeography. Molecular Phylogenetics and Evolution 99, 133–143.

Nazarudin, M., Nugraha, J., 2015. NILAI DIAGNOSTIK Rapid Test TbAg DAN MPT64 DENGAN KULTUR SEBAGAI GOLD STANDARD, Jurnal Biosains Pascasarjana. Muhammad Nazarudin.

Nhamoye-bonde, S., Leslie, A., 2014. Biological differences between the sexes and susceptibility to tuberculosis. Journal of Infectious Diseases 209.

Peng, X., Sun, J., 2016. Mechanism of ESAT-6 membrane interaction and its roles in pathogenesis of *Mycobacterium tuberculosis*. Toxicon 116, 29–34.

Ramachaniah, F., Syarif, S., 2020. Studi Tinjauan Pustaka: Risiko Kejadian Kanker Paru pada Penderita Tuberkulosis Paru. Jurnal Epidemiologi Kesehatan Indonesia 4, 29–36.



Ravimohan, S., Kornfeld, H., Weissman, D., Bisson, G.P., 2018. Tuberculosis and lung damage: From epidemiology to pathophysiology. *European Respiratory Review* 27.

Ren, N., JinLi, J., Chen, Y., Zhou, X., Wang, J., Ge, P., Khan, F.A., Zhang, L., Hu, C.,

Robertson, I.D., Chen, H., Guo, A., 2018. Identification of new diagnostic biomarkers for *Mycobacterium tuberculosis* and the potential application in the serodiagnosis of human tuberculosis. *Microbial Biotechnology* 11, 893–904.

Sakashita, K., Takeuchi, R., Takeda, K., Takamori, M., Ito, K., Igarashi, Y., Hayashi, E.,

Iguchi, M., Ono, M., Kashiwama, T., Tachibana, M., Miyakoshi, J., Yano, K., Sato,

Y., Yamamoto, M., Murata, K., Wada, A., Chikamatsu, K., Aono, A., Takaki, A.,

Nagai, H., Yamane, A., Kawashima, M., Komatsu, M., Nakaishi, K., Watabe, S.,

Mitarai, S., 2020. Ultrasensitive enzyme-linked immunosorbent assay for the

detection of MPT64 secretory antigen to evaluate *Mycobacterium tuberculosis*

viability in sputum. *International Journal of Infectious Diseases* 96, 244–253.

Sanyaolu, A., 2019. Tuberculosis: A Review of Current Trends. *Epidemiology*

International Journal 3, 1–13.

Serafino, R.L., Med, T., 2013. Tuberculosis 2: Pathophysiology and microbiology of

pulmonary tuberculosis 6, 10–12.

Shen, G.H., Chiou, C.S., Hu, S.T., Wu, K.M., Chen, J.H., 2011. Rapid identification of

the *Mycobacterium tuberculosis* complex by combining the ESAT-6/CFP-10

immuno-chromatographic assay and smear morphology. *Journal of Clinical*

Microbiology 49, 902–907.

Shenai, S., 2015. WHO Recommended Tools to Improve Diagnosis of Active and Drug

Resistant Tuberculosis.

Shi, X., Guy, E.S., Barbosa, E.J.M., Shroff, G.S., Ocazonez, D., Schlesinger, A.E.,

Katz, S.L., Hammer, M.M., 2017. Pulmonary Tuberculosis : Role of Radiology in

Diagnosis and 52–72



Singh, U.B., Pandey, P., Mehta, G., Bhatnagar, A.K., Mohan, A., Goyal, V., Ahuja, Y., Ramachandran, R., Sachdeva, K.S., Samantaray, J.C., 2016. Genotypic, phenotypic and clinical validation of genexpert in extra-pulmonary and pulmonary tuberculosis in India. *PLoS ONE* 11.

Sotgiu, G., Saderi, L., Petruccioli, E., Aliberti, S., Piana, A., Petrone, L., Goletti, D., 2019. QuantiFERON TB Gold Plus for the diagnosis of tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Infection* 79, 444–453.

Sudha, S., 2016. Tuberculosis diagnosis - An overview to the conventional diagnostic methodology and need for nanodiagnosis Tuberculosis diagnosis – an overview to the conventional diagnostic methodology and need for nanodiagnosis.

Suryani, N.R., Lillah, L., Alia, E., 2018. Kesesuaian Uji Cepat Antigen Mycobacterium tuberculosis dengan Pulasan BTA pada Tersangka Tuberkulosis Paru. *Jurnal Kesehatan Andalas* 7, 30.

Sypabekova, M., Dukenbayev, K., Tsepke, A., Akisheva, A., Orabayev, N., Kanayeva, D., 2019. An aptasensor for the detection of Mycobacterium tuberculosis secreted immunogenic protein MPT64 in clinical samples towards tuberculosis detection. *Scientific Reports* 9, 1–11.

Tima, H.G., al Dulayymi, J.R., Denis, O., Lehebel, P., Baols, K.S., Mohammed, M.O., L'homme, L., Sahb, M.M., Potemberg, G., Legrand, S., Lang, R., Beyaert, R., Piette, J., Baird, M.S., Huygen, K., Romano, M., 2017. Inflammatory Properties and Adjuvant Potential of Synthetic Glycolipids Homologous to Mycolate Esters of the Cell Wall of Mycobacterium tuberculosis. *Journal of Innate Immunity* 9, 162–180.

Turbawaty, D.K., Sugianli, A.K., Soeroto, A.Y., Setiabudiawan, B., Parwati, I., 2017. Comparison of the Performance of Urinary Mycobacterium tuberculosis Antigens Cocktail (ESAT6, CFP10, and MPT64) with Culture and Microscopy in Pulmonary Tuberculosis Patients. *International Journal of Microbiology* 2017, 2–7.



Watson, P.F., Petrie, A., 2010. Method agreement analysis: A review of correct methodology. *Theriogenology*.

Weyer, K., Mirzayev, F., Migliori, G.B., van Gemert, W., D'Ambrosio, L., Zignol, M., Floyd, K., Centis, R., Cirillo, D.M., Tortoli, E., Gilpin, C., de Dieu Iragena, J., Falzon, D., Raviglione, M., 2013. Rapid molecular TB diagnosis: Evidence, policy making and global implementation of Xpert MTB/RIF. *European Respiratory Journal* 42, 252–271.

Wondale, B., Medhin, G., Abebe, G., Tolosa, S., Mohammed, T., Teklu, T., Pieper, R., Ameni, G., 2018. Phenotypic and genotypic drug sensitivity of mycobacterium tuberculosis complex isolated from south Omo zone, southern Ethiopia. *Infection and Drug Resistance* 11, 1581–1589.

LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. TABULASI DATA SUBJEK PENELITIAN

No.	Identitas sampel	Jenis Kelamin	Usia (dalam tahun)	Antigen TB Kuantitatif	Hasil BTA	Hasil TCM
1	Subjek 1	L	54	101.543	2+	MTB detected low
2	Subjek 2	P	54	46.229	Negatif	Negatif
3	Subjek 3	P	77	0.001	Negatif	Negatif
4	Subjek 4	P	58	0.001	Negatif	Negatif
5	Subjek 5	P	59	0.001	Negatif	Negatif
6	Subjek 6	P	23	13.117	Negatif	Negatif
7	Subjek 7	L	48	0.001	Negatif	Negatif
8	Subjek 8	L	11	0.001	Negatif	Negatif
9	Subjek 9	P	40	0.001	Negatif	Negatif
10	Subjek 10	P	44	6.346	1+	MTB detected low
11	Subjek 11	L	55	0.001	Negatif	Negatif
12	Subjek 12	L	18	0.001	Negatif	Negatif
13	Subjek 13	L	26	0.001	Negatif	Negatif
14	Subjek 14	P	45	0.001	Negatif	Negatif
15	Subjek 15	P	60	0.001	Negatif	Negatif
16	Subjek 16	P	71	131.668	3+	MTB detected medium
17	Subjek 17	L	73	0.001	Negatif	Negatif
18	Subjek 18	P	33	63.226	Negatif	MTB detected Low
19	Subjek 19	P	84	0.001	Negatif	Negatif
20	Subjek 20	P	39	0.001	Negatif	Negatif
21	Subjek 21	L	32	10.197	2+	MTB detected low
22	Subjek 22	L	50	0.001	Negatif	Negatif
23	Subjek 23	L	44	0.001	Negatif	Negatif
24	Subjek 24	L	77	33.312	2+	MTB detected low
25	Subjek 25	L	66	0.001	Negatif	Negatif
26	Subjek 26	L	71	0.001	Negatif	Negatif
27	Subjek 27	P	50	0.001	Negatif	Negatif
28	Subjek 28	L	18	0.001	Negatif	Negatif
29	Subjek 29	L	75	0.001	Negatif	Negatif
30	Subjek 30	L	67	0.001	Negatif	Negatif
31	Subjek 31	L	67	0.001	Negatif	Negatif
32	Subjek 32	P	41	58.67	Negatif	Negatif
33	Subjek 33	P	59	0.001	Negatif	Negatif
34	Subjek 34	L	54	42.936	Negatif	Negatif
35	Subjek 35	L	81	0.001	Negatif	Negatif
36	Subjek 36	P	70	0.001	Negatif	Negatif
37	Subjek 37	L	67	0.001	Negatif	Negatif
38	Subjek 38	P	58	0.001	Negatif	Negatif
39	Subjek 39	L	69	143.078	2+	MTB detected medium
40	Subjek 40	L	69	0.001	Negatif	Negatif
41	Subjek 41	P	39	21.627	2+	MTB detected low



42	Subjek 42	P	-	19.624	2+	MTB detected low
43	Subjek 43	F	62	0.001	Negatif	Negatif
44	Subjek 44	P	65	0.001	Negatif	Negatif
45	Subjek 45	L	15	0.001	Negatif	Negatif
46	Subjek 46	P	55	0.001	1+	MTB detected low
47	Subjek 47	P	51	0.001	Negatif	Negatif
48	Subjek 48	L	62	0.001	Negatif	Negatif
49	Subjek 49	L	49	0.001	Negatif	Negatif
50	Subjek 50	P	74	0.001	Negatif	Negatif
51	Subjek 51	L	27	13.783	2+	MTB detected high
52	Subjek 52	F	24	0.001	Negatif	Negatif
53	Subjek 53	F	31	0.001	Negatif	Negatif
54	Subjek 54	L	69	146.105	1+	MTB detected low
55	Subjek 55	P	-	34.469	Negatif	Negatif
56	Subjek 56	L	40	0.001	Negatif	Negatif
57	Subjek 57	L	33	26.08	Negatif	Negatif
58	Subjek 58	F	49	0.001	Negatif	Negatif
59	Subjek 59	L	51	0.001	Negatif	Negatif
60	Subjek 60	F	51	0.001	Negatif	Negatif
61	Subjek 61	L	68	0.001	Negatif	Negatif
62	Subjek 62	L	-	8.387	Negatif	Negatif
63	Subjek 63	P	63	0.001	Negatif	Negatif
64	Subjek 64	L	32	73.434	Negatif	Negatif
65	Subjek 65	P	62	80.701	Negatif	Negatif
66	Subjek 66	L	70	0.001	Negatif	Negatif
67	Subjek 67	L	54	8.368	2+	MTB detected low
68	Subjek 68	P	38	0.001	Negatif	Negatif
69	Subjek 69	L	38	23.475	3+	MTB detected medium
70	Subjek 70	F	7	18.913	Negatif	Negatif
71	Subjek 71	L	31	5.389	Negatif	Negatif
72	Subjek 72	L	20	8.783	2+	MTB detected low Rifampisin resistant detected
73	Subjek 73	L	54	23.475	Negatif	Negatif
74	Subjek 74	L	55	0.001	Negatif	Negatif
75	Subjek 75	L	77	8.349	Negatif	Negatif
76	Subjek 76	P	33	0.001	Negatif	Negatif
77	Subjek 77	L	34	122.97	2+	MTB detected low
78	Subjek 78	L	70	0.001	Negatif	Negatif
79	Subjek 79	L	29	40.207	3+	MTB detected High
80	Subjek 80	L	57	0.001	Negatif	Negatif
81	Subjek 81	F	27	9.919	2+	MTB detected medium Rifampisin resistant detected
82	Subjek 82	P	21	0.001	Negatif	Negatif



83	Subjek 83	L	72	0.001	Negatif	Negatif
84	Subjek 84	F	64	28.213	Negatif	Negatif
85	Subjek 85	L	51	6.623	Negatif	Negatif
86	Subjek 86	F	74	0.001	Negatif	Negatif
87	Subjek 87	P	67	0.001	Negatif	Negatif
88	Subjek 88	P	39	17.711	Negatif	Negatif
89	Subjek 89	P	-	0.001	Negatif	Negatif
90	Subjek 90	L	50	0.001	Negatif	Negatif
91	Subjek 91	L	57	0.001	Negatif	Negatif
92	Subjek 92	F	39	23.767	Negatif	Negatif
93	Subjek 93	P	31	25.499	Negatif	Negatif
94	Subjek 94	P	57	15.883	Negatif	Negatif
95	Subjek 95	L	25	0.001	Negatif	Negatif
96	Subjek 96	L	49	0.001	Negatif	Negatif

LAMPIRAN 2. HASIL ANALISIS DATA KARAKTERISTIK SUBJEK PENELITIAN

2.1. Statistik Deskriptif Rerata Usia Berdasarkan Kelompok Subjek

	Kelompok Subjek	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Sig.
Usia dalam tahun	nonTB	78	51,01	18,303	2,128	,257
	TB	18	45,41	17,958	4,356	

2.2 Statistik Deskriptif Berdasarkan Jenis Kelamin

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	L	50	52,1	52,1
	P	46	47,9	47,9
Total	96	100,0	100,0	100,0

2.3. Statistik Deskriptif Berdasarkan Jenis Kelamin dan Kelompok Subjek

Jenis Kelamin	L	P	Kelompok Subjek			Sig.
			nonTB	TB	Total	
Count	11	7	39	7	50	,395
	% within GENDER	78,0%	86,8%	22,0%	15,2%	
Count	39	7	39	7	46	
	% within GENDER	15,2%	86,8%	15,2%	86,8%	
Total	78	46	78	88	96	
	% within GENDER	81,2%	18,8%	81,2%	18,8%	

LAMPIRAN 3 HASIL ANALISIS DATA ANTIGEN TB KUANTITATIF

3.1. Uji Normalitas Data Penelitian



Parameter	TCM	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Log	Negatif	0,469	78	0,000	0,558	78	0,000
Kuantitatif	Positif	0,298	18	0,000	0,635	18	0,000
Kuantitatif	Negatif	0,424	78	0,000	0,508	78	0,000
	Positif	0,249	18	0,004	0,788	18	0,001

^a. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

3.2. Data Deskriptif Antigen TB Kuantitatif berdasarkan Hasil TCM

TCM baru	1=- 2=+	Percentiles							
		5	10	25	50	75	90	95	
Weighted	TB	1	0,001	0,001	0,001	0,001	1,348	26,29	46,851
Average	Kuantitat						3	05	
(Definition 1)	if	2	0,001	5,711	9,635	22,551	106,899	143,3	75 80
Tukey's Hinges	TB	1			0,001	0,001	0,001		
	Kuantitat	2			9,919	22,551	101,543		

3.3. Uji Mann Whitney Antigen TB Kuantitatif berdasarkan Kelompok Pasien Ranks

Kelompok Subjek	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar Antigen TB Kuantitatif non TB	78	41,90	3268,00
TB	18	77,11	1388,00
Total	96		

Test Statistics(a)

	Nilai Antigen TB Kuantitatif
Mann-Whitney U	187,000
Wilcoxon W	3268,000
Z	-5,560
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,000

3.4. Uji Korelasi Spearman Kadar Antigen TB Kuantitatif Correlations

Spearman's rho	TCM 1=-, 2=low, 3=med, 4=high	Correlation Coefficient	Sig. (2-tailed)	N	TCM 1=-, 2=low, 3=med, 4=high	BTA= 1=-, 2=+1, 3=+2, 4=+3	TB Ag Kuantitatif
					1,000	.972**	.541**
				96	.000	.000	.000
				96			96

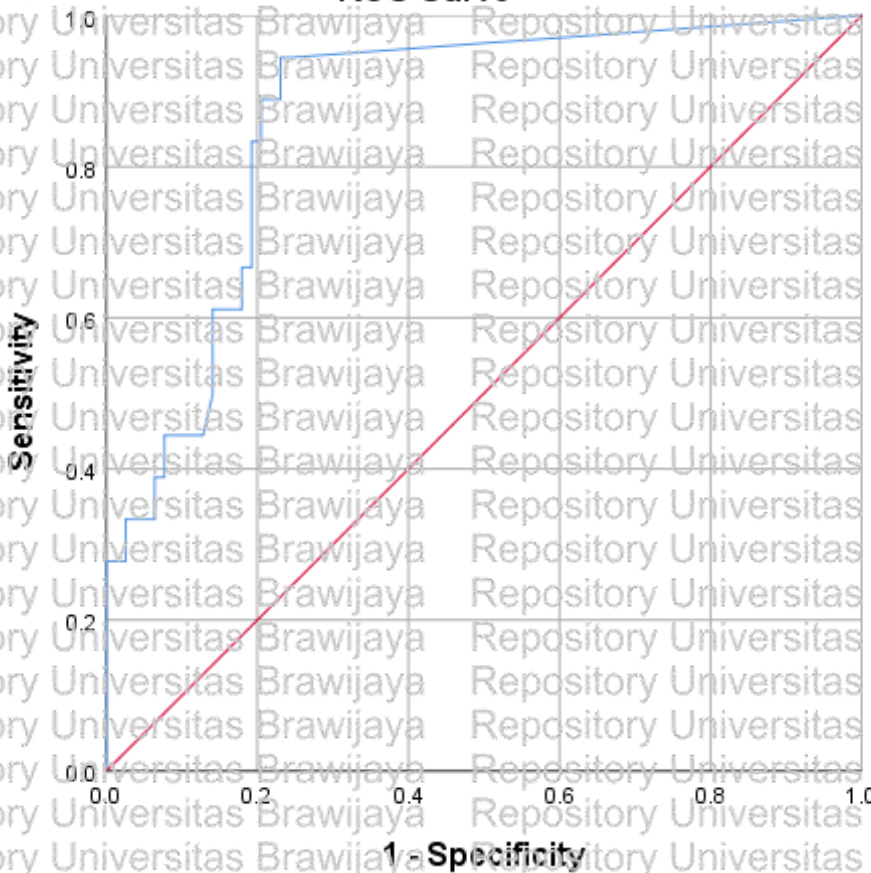


BTA= 1=, 2=+1, 3=+2, 4=+3	Correlation Coefficient	.972**	1.000	.577**
	Sig. (2-tailed)	.000		.000
	N	96	96	96
TB Ag Kuantitatif	Correlation Coefficient	.541**	.577**	1.000
	Sig. (2-tailed)	.000	.000	
	N	96	96	96

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

3.5. Kurva ROC Antigen TB Kuantitatif dibandingkan TCM

ROC Curve



Area Under the Curve					
Test Result Variable(s): Antigen TB Kuantitatif					
Asymptotic 95% Confidence Interval					
Std. Area	Asymptotic Error ^a	Sig. ^b	Lower Bound	Upper Bound	
.867	.044	.000	.781	.953	

a. Under the nonparametric assumption

b. Null hypothesis: true area = 0.5

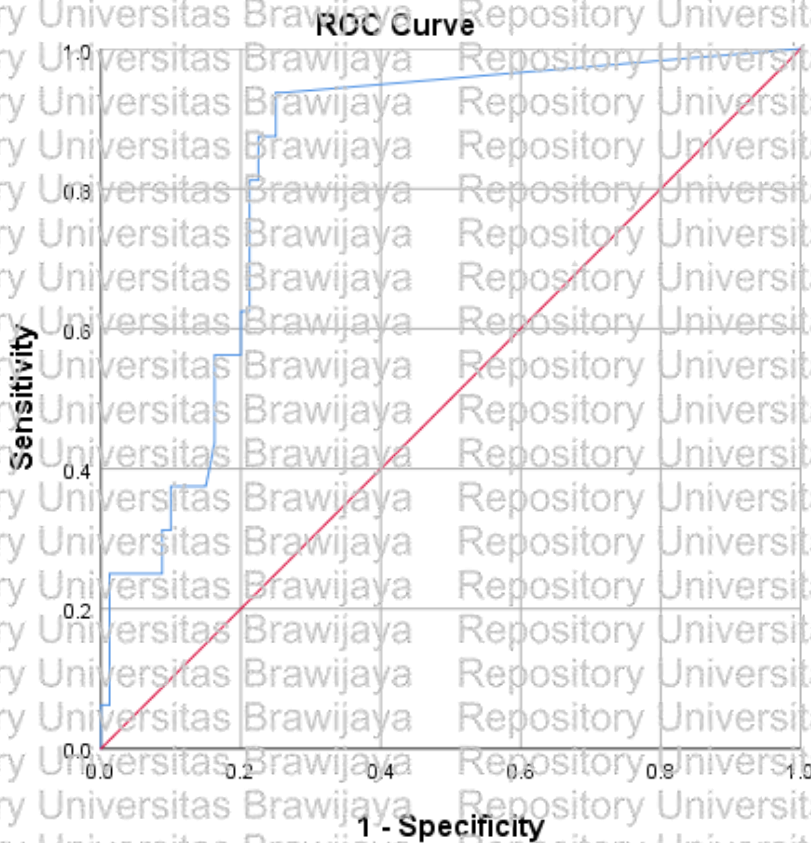


3.6. Tabel Koodinat Kurva ROC Antigen TB Kuantitatif dibandingkan TCM

<i>Coordinates of the Curve</i>		
<i>Test Result Variable(s): Antigen TB Kuantitatif</i>		
<i>Positive if Greater Than or Equal To^a</i>	<i>Sensitivity</i>	<i>1 – Specificity</i>
-1.0000	1.000	1.000
2.6945	.944	.244
5.8675	.944	.231
6.4845	.889	.231
7.4860	.889	.218
8.3585	.889	.205
8.3775	.833	.205
8.5850	.833	.192
9.3510	.778	.192
10.0580	.722	.192
11.6570	.667	.192
13.4500	.667	.179
14.8330	.611	.179
16.7970	.611	.167
18.3120	.611	.154
19.2685	.611	.141
20.6255	.556	.141
22.5510	.500	.141
23.6210	.444	.128
24.6330	.444	.115
25.7895	.444	.103
27.1465	.444	.090
30.7625	.444	.077
33.8905	.389	.077
37.3380	.389	.064
41.5715	.333	.064
44.5825	.333	.051
52.4495	.333	.038
60.9480	.333	.026
68.3300	.278	.026
77.0675	.278	.013
91.1220	.278	.000
112.2565	.222	.000
127.3190	.167	.000
137.3730	.111	.000
144.5915	.056	.000
147.1050	.000	.000

a. The smallest cutoff value is the minimum observed test value minus 1, and the largest cutoff value is the maximum observed test value plus 1. All the other cutoff values are the averages of two consecutive ordered observed test values.

3.7. Kurva ROC Kadar Antigen TB Kuantitatif dibandingkan dengan BTA



Area Under the Curve

Test Result Variable(s): Antigen TB Kuantitatif

Asymptotic 95% Confidence Interval

Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Lower Bound	Upper Bound
.834	.049	.000	.739	.930

a. Under the nonparametric assumption

b. Null hypothesis: true area = 0.5

3.3. Tabel Koordinat Kurva ROC Antigen TB Kuantitatif dibandingkan BTA

Coordinates of the Curve

Test Result Variable(s): Antigen TB Kuantitatif

Positive if Greater Than or Equal To^a

	Sensitivity	1 - Specificity
-1.0000	1.000	1.000
2.6945	.938	.262
5.8675	.938	.250
6.4845	.875	.250
7.4860	.875	.238



Repository Universitas Brawijaya	8.3585	.875	Repository Universitas Brawijaya	225
Repository Universitas Brawijaya	8.3775	.813	Repository Universitas Brawijaya	225
Repository Universitas Brawijaya	8.5850	.813	Repository Universitas Brawijaya	213
Repository Universitas Brawijaya	9.3510	.750	Repository Universitas Brawijaya	213
Repository Universitas Brawijaya	10.0580	.688	Repository Universitas Brawijaya	213
Repository Universitas Brawijaya	11.6570	.625	Repository Universitas Brawijaya	213
Repository Universitas Brawijaya	13.4500	.625	Repository Universitas Brawijaya	200
Repository Universitas Brawijaya	14.8330	.563	Repository Universitas Brawijaya	200
Repository Universitas Brawijaya	16.7970	.563	Repository Universitas Brawijaya	188
Repository Universitas Brawijaya	18.3120	.563	Repository Universitas Brawijaya	175
Repository Universitas Brawijaya	19.2685	.563	Repository Universitas Brawijaya	162
Repository Universitas Brawijaya	20.6255	.500	Repository Universitas Brawijaya	162
Repository Universitas Brawijaya	22.5510	.438	Repository Universitas Brawijaya	162
Repository Universitas Brawijaya	23.6210	.375	Repository Universitas Brawijaya	150
Repository Universitas Brawijaya	24.6330	.375	Repository Universitas Brawijaya	137
Repository Universitas Brawijaya	25.7895	.375	Repository Universitas Brawijaya	125
Repository Universitas Brawijaya	27.1465	.375	Repository Universitas Brawijaya	113
Repository Universitas Brawijaya	30.7625	.375	Repository Universitas Brawijaya	100
Repository Universitas Brawijaya	33.8905	.313	Repository Universitas Brawijaya	100
Repository Universitas Brawijaya	37.3380	.313	Repository Universitas Brawijaya	088
Repository Universitas Brawijaya	41.5715	.250	Repository Universitas Brawijaya	088
Repository Universitas Brawijaya	44.5825	.250	Repository Universitas Brawijaya	075
Repository Universitas Brawijaya	52.4495	.250	Repository Universitas Brawijaya	063
Repository Universitas Brawijaya	60.9480	.250	Repository Universitas Brawijaya	050
Repository Universitas Brawijaya	68.3300	.250	Repository Universitas Brawijaya	037
Repository Universitas Brawijaya	77.0675	.250	Repository Universitas Brawijaya	025
Repository Universitas Brawijaya	91.1220	.250	Repository Universitas Brawijaya	012
Repository Universitas Brawijaya	112.2565	.188	Repository Universitas Brawijaya	012
Repository Universitas Brawijaya	127.3190	.125	Repository Universitas Brawijaya	012
Repository Universitas Brawijaya	137.3730	.063	Repository Universitas Brawijaya	012
Repository Universitas Brawijaya	144.5915	.063	Repository Universitas Brawijaya	000
Repository Universitas Brawijaya	147.1050	.000	Repository Universitas Brawijaya	000

a. The smallest cutoff value is the minimum observed test value minus 1, and the largest cutoff value is the maximum observed test value plus 1. All the other cutoff values are the averages of two consecutive ordered observed test values.



LAMPIRAN 4. DOKUMENTASI PELAKSANAAN PENELITIAN



Kaset Kontrol dan Kalibrator



Reader Antigen TB Kuantitatif



Barcode Test Card yang akan dikuantifikasi oleh Reader

Hospital	1807	Operator	FKUB	Report Date	131112
Cassette Number	1403	Lot No.	19422		
Date	20190718141507	Result	POS		
Test ID	202	Conc / Index	0.091		
Test Name	TB	unit	ng		
Sample ID	0	Dilution			



Contoh Hasil Negatif TB Antigen kuantitatif

Hospital	FKUB	Operator	FKUB	Report Date	131112
Cassette Number	1381	Lot No.	101013		
Date	20190718134126	Result	NEG		
Test ID	202	Conc / Index	0.091		
Test Name	TB	unit	ng		
Sample ID	0	Dilution			



Hospital	1807	Operator	FKUB	Report Date	131112
Cassette Number	1400	Lot No.	19422		
Date	20190718141507	Result	POS		
Test ID	202	Conc / Index	14.403		
Test Name	TB	unit	ng		
Sample ID	0	Dilution			



Contoh Hasil Positif TB Antigen Kuantitatif

Hospital	1807	Operator	FKUB	Report Date	131112
Cassette Number	1367	Lot No.	19422		
Date	20190718141507	Result	POS		
Test ID	202	Conc / Index	100.997		
Test Name	TB	unit	ng		
Sample ID	0	Dilution			



