

DAFTAR PUSTAKA

- Afriani, T., Purwati, E., Hellyward, J., Jaswandi, J., Yurnalis, Y., Mundana, M., & Rastosari, A. (2022). Identifikasi Keragaman Gen FSH Bagian Ekson 2 Menggunakan Enzim Restriksi TasI pada Sapi Pesisir. *Jurnal Peternakan*, *19*(2), 86-95.
- Agapova, A., Serafini, A., Petridis, M., Hunt, D. M., Garza-Garcia, A., Sohaskey, C. D., & de Carvalho, L. P. S. (2019). Flexible Nitrogen Utilisation by The Metabolic Generalist Pathogen *Mycobacterium tuberculosis*. *Elife*, *8*, e41129.
- Amelia, R., & Nasir, M. (2019). Pengaruh Konsentrasi Asam Alkohol Terhadap Hasil Pemeriksaan Basil Tahan Asam Metode Ziehl Neelsen. *Jurnal Media Analis Kesehatan*, *10*(2), 126-135.
- Aminah, A., Ramadini, R., & Naid, T. (2019). Analisis Cemaran DNA Tikus pada Bakso Daging Sapi yang Beredar di Makassar dengan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, *5*(1), 93-100.
- Andriani, E. (2022). Hubungan Kadar Interleukin (il-10) dan Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Konversi Sputum pada Pengobatan Tuberkulosis Paru Resisten Obat (tbro) = Relation of Interleukine (il-10) Level and Sputum Conversion Factors Influence in Drug Resistant Tuberculosis Treatment. *Doctoral dissertation*, Universitas Hasanuddin.
- Arimurti, A. R. R. (2018). Keanekaragaman Genetik Nyamuk Vektor *Filariasis Culex Quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae) di Kota dan Kabupaten Pekalongan dengan Metode PCR-RAPD. *Laporan penelitian*, Universitas Muhammadiyah Surabaya.
- Artati, D. (2016). Sensitivitas Gel Red sebagai Pewarna DNA pada Gel Elektroforesis. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, *11*(1), 11-14.
- Artati, D., & Lubis, D. S. (2017). Optimasi Performa DNA Marker pada Elektroforesis Gel. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, *15*(2), 47-50.
- Augenstreich, J., & Briken, V. (2020). Host Cell Targets of Released Lipid and Secreted Protein Effectors of *Mycobacterium tuberculosis*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *10*, 595029.
- Aulia, S. L., Suwignyo, R. A., & Hasmeda, M. (2021). Optimasi Suhu Annealing untuk Amplifikasi DNA Padi Hasil Persilangan Varietas Tahan Terendam dengan Metode Polymerase Chain Reaction. *Sainmatika: Jurnal Ilmiah Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*, *18*(1), 44-54.

- Benchling. (2022). Protocol Repository. Gene fbpA. Diakses pada tanggal 15 Desember 2022. https://benchling.com/dedeng_wahyudi/f/lib_bXsF8IjA-%20protocol-repository/seq_uhlfG6S3-fbpa-gene/edit
- Bergey, D. H. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Caiherang. (2022). Tuberkulosis (TB): Patofisiologi, Diagnosis dan Tatalaksana. *Tuberkulosis*. Sains dan Kedokteran.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2022). *Treatment of Drug-Resistant TB*. Diakses pada tanggal 10 Desember 2022. <https://www.cdc.gov/tb/publications/factsheets/treatment/drugresistanttreatment.htm>
- Damayanti, R., Fatiqin, A., & Trismawanti, I. (2021). Teknik Ekstraksi Jaringan DNA Ikan Sidah (*Anguilla sp.*) di BRPPUPP Palembang. In *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Terapan* (Vol. 4, pp. 309-319).
- Deliananda, S. S., & Azizah, R. (2022). Faktor Risiko Kejadian Tuberkulosis Paru di Indonesia Tahun 2014-2021: Literature Review. *Media Publikasi Promosi Kesehatan Indonesia (Mppki)*, 5(9), 1054-1062.
- Devi, A. U., Cahyo, K., & Shaluhayah, Z. (2019). Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Perilaku Pasien TB MDR dalam Pencegahan Penularan TB MDR di Wilayah Kerja Puskesmas Kota Semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat (Undip)*, 7(1), 442-452.
- Dewi, H., & Fairuz, F. (2020). Pelatihan dan Update Pemeriksaan Sitologi *Mycobacterium tuberculosis* Dengan Pewarnaan Ziehl Nielsen di Puskesmas Sungai Duren. *Medical Dedication (Medic): Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat FKIK UNJA*, 3(1), 59-63.
- Dewi, N. K., Purwanto, & Sunoko, H. R. 2014. Metallothionein Pada Hati Ikan Sebagai Biomarker Pencemaran Kadmium (Cd) Di Perairan Kaligarang Semarang. *Jurnal Manusia dan Lingkungan*. Vol. 21(3):304-309.
- Dinkes Kota Makassar. (2022). Data Kasus Tuberkulosis di Kota Makassar. Profil Dinas Kesehatan Kota Makassar Tahun 2022.
- Elsi, N. A. (2023). Petunjuk Praktis Aplikasi Biomarker Sederhana_1008. *Resensi Buku*, Universitas Hasanuddin.
- Ervina, T. (2019). Daya Hambat Jinten Hitam (*Nigella Sativa*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* di Media Lowenstein Jensen. *Doctoral Dissertation*, Poltekkes Kemenkes Surabaya.
- Fatchiyah, Estri L. A., Suharjo & Nia K., 2018. *Modul Praktikum Sidik Jari Molekuler dan Barcoding*. Malang: Fakultas MIPA, Jurusan Biologi, Universitas Brawijaya.

- Geneaid (2023). *100 bp DNA Ladder Catalogue Description*. Diakses 5 Juli 2023. <https://www.geneaid.com/data/download/attached/1602835694044682918.pdf>
- Goldberg, A. (2019). A Brief history of PCR and Its Derivatives. Labtag.
- Harahap, M. R. (2018). Elektroforesis: Analisis Elektronika terhadap Biokimia Genetika. *CIRCUIT: Jurnal Ilmiah Pendidikan Teknik Elektro*, 2(1).
- Hasudungan, A. (2020). Hubungan Pengetahuan Penderita TBC Terhadap Stigma Penyakitnya di Wilayah Kerja Puskesmas Parongpong Kecamatan Parongpong Kabupaten Bandung Barat. *CHMK Nursing Scientific Journal*, 4(1), 171-177.
- Hidayati, H., Saleh, E., & Aulawi, T. (2016). Identifikasi Keragaman Gen Bmpr-1b (*Bone Morphogenetic Protein Receptor 1b*) pada Ayam Arab, Ayam Kampung dan Ayam Ras Petelur Menggunakan PCR-RFLP. *Jurnal Peternakan*, 13(1), 1-11.
- Hikmatyar, M. F., & Royani, J. I. (2015). Isolasi dan Amplifikasi DNA Keladi Tikus (*Thyponium Flagelliform*) untuk Identifikasi Keragaman Genetik. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi)*, 2(2), 42-48.
- Hunter, L.R., 2018. The Pathogenesis of Tuberculosis: The Early Infiltrate of Post-Primary (Adult Pulmonary) Tuberculosis: A Distinct Disease Entity. *Journals Tuberculosis*. 9(1): 1-9.
- Ingrat, I. W. (2018). Pengaruh Kecepatan Pemusingan Terhadap Jumlah Leukosit Urin Metode Manual. *Doctoral dissertation*, Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Irmawati. (2003). Perubahan Keragaman Genetik Ikan Kerapu Tikus Generasi Pertama Pada Stok Hatchery. *Thesis*. Bogor: IPB
- Kamaliah, K. (2017). Perbandingan Metode Ekstraksi DNA Phenol-Chloroform dan Kit Extraction pada Sapi Aceh dan Sapi Madura. *Biotik: Jurnal Ilmiah Biologi Teknologi dan Kependidikan*, 5(1), 60-65.
- Kementerian Kesehatan RI (2022). *Tuberculosis*. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI Tahun 2022.
- Kusnadi, J., & Arumingtyas, E. L. (2020). *Polymerase Chain Reaction (PCR): Teknik dan Fungsi*. Universitas Brawijaya Press.
- Kusnadi, J., Arumingtyas, E. L., & Hakiki, H. M. (2022). *Aplikasi Teknik PCR untuk Autentikasi Halal*. Universitas Brawijaya Press.
- Lamichhnae, S. R., & Milic, N. (2018). *Mycobacterium Tuberculosis: Gene and Genome Analysis*. *Asian Journal Of Microbiology And Biotechnology*, 3(1): 24-33.

- Listiyanti, A. (2017). Gambaran Suspect TB Di Lingkungan Sekitar Tempat Tinggal Penderita TB Paru Di Wilayah Sambiroto Semarang. *Doctoral dissertation*, Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Lumbantoruan, A. (2019). Pengaruh Penundaan Penanganan Sputum terhadap Hasil Pembacaan Sediaan secara Mikroskopis pada Penderita TB di UPT. Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Sumatera Utara. *Scientific paper*, Politeknik Kesehatan Kemenkes RI.
- Martino De., M., Lodi, L., Galli, L., & Chiappini, E. (2019). Immune Response To *Mycobacterium Tuberculosis*: A Narrative Review. *Frontiers In Pediatrics*, 7, 350.
- Melati, R. P., Nurjanah, S., & Rahayu, W. P. (2022). Desain Primer Gen Virulensi *invA* untuk Identifikasi dan Sekuensing *Salmonella* pada Sampel Karkas Ayam. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*, 10(2), 91-97.
- Merdekawati, F., & Nurhayati, B. (2023). Desain Primer Gen Pengkode RNA Dependent RNA Polimerase (RdRp) untuk Deteksi Sars Cov2 dengan Menggunakan Real Time Polymerase Chain Reaction. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*, 15(1), 30-36.
- Mertaniasih, N. M., Dewi, D. N. S. S., Soedarsono, S., Kurniati, A., Rohman, A., Nuha, Z., & Matsumoto, S. (2021). The *espD* Full Gene as a Potential Biomarker in Active Pulmonary Tuberculosis. *International Journal of Mycobacteriology*, 10(4), 421.
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2020). *Medical microbiology E-book*. Elsevier Health Sciences.
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2022). *Mycobacterium tuberculosis*. Diakses pada tanggal 10 Desember 2022. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/166>
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2023). *BLAST (Basic Local Alligment Search Tool)*. Diakses pada tanggal 7 Juli 2023. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
- Nugraha, J. (2016). *Mycobacterium tuberculosis* Sistem Imun Alamiah Terkait Penerimaannya. *Indonesian Journal Of Clinical Pathology And Medical Laboratory*, 19(1), 45-50.
- Nugroho, F. S., Shaluhayah, Z., & Adi, S. (2018). Gambaran Perilaku Pengobatan Pasien TB MDR Fase Intensif Di RS DR Moewardi Surakarta. *Jurnal Kesehatan*, 11(1), 32-42.
- Oncohemakey (2016). Schematic Depiction of The Mycobacterial Cell Wall, Which Consists of Three Major Layers. *Fastest Ocology and Hematology Insight Engine*. Diakses pada tanggal 10 Desember 2022. <https://oncohemakey.com/mycobacteria/>

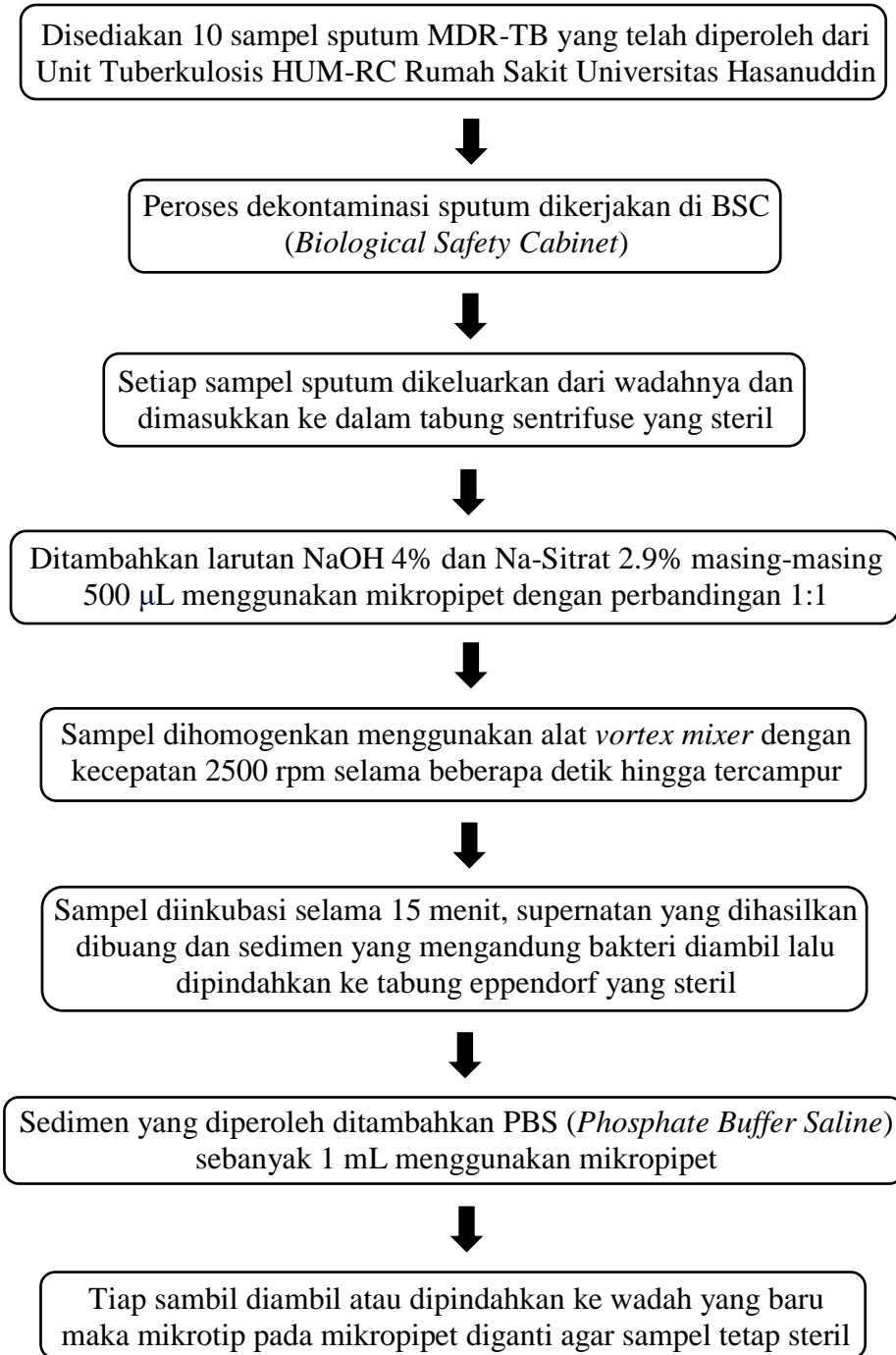
- Rau, C. H. (2018). Isolasi, Identifikasi secara Molekuler Menggunakan Gen 16S rRNA, dan Uji Aktivitas Antibakteri bakteri Simbion Endofit yang Diisolasi dari Alga Halimeda opuntia. *Jurnal Pharmacon*, 7(2).
- Sabiiti, W., Azam, K., Esmeraldo, E., Bhatt, N., Rachow, A., & Gillespie, S. H. (2019). Heat Inactivation Renders Sputum Safe and Preserves *Mycobacterium Tuberculosis* RNA for Downstream Molecular Tests. *Journal of clinical microbiology*, 57(4), e01778-18.
- Saraswati, H., Seprianto, S., & Wahyuni, F. D. (2019). Desain primer secara in silico untuk amplifikasi gen cryiii dari *Bacillus thuringiensis* Isolat Lokal. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 3(1), 33-38.
- Sari, M. (2023). Karakterisasi Biologi dan Efektivitas Proteksi Silang Strain Lemah terhadap Super Infeksi Strain Ganas *Pepper Yellow Leaf Curl Virus* (Pepylcv) pada Cabai Rawit (*Capsicum frutescens L.*). *Doctoral dissertation*, Universitas Lampung.
- Sasmitha, L. V., Yustiantara, P. S., Yowani, S. C., MDR-TB, K. S., & Jimbaran, B. (2018). Desain DNA Primer secara in silico sebagai Pendeteksi Mutasi Gen *gyrA Mycobacterium tuberculosis* untuk Metode Polymerase Chain Reaction. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*, 8(1), 63-69.
- Sia, J. K., & Rengarajan, J. (2019). Immunology of Mycobacterium Tuberculosis Infections. *Microbiology Spectrum*, 7(4), 7-4.
- Silitonga, Y. A. M., Kurniati, I., Ariza, R., & Imanto, M. (2019). Kolaborasi Tuberculosis (TBC) dan Human Immunodeficiency Virus (HIV). *Medical Profession Journal of Lampung*, 9(2), 266-274.
- Siregar, M. I. T. (2018). Hubungan Kepatuhan Pasien Tuberkulosis Paru Mengonsumsi Isoniazid Selama Pengobatan Obat Anti Tuberkulosis dengan Mutasi Gen *katG Ser315thr (G944c) Mycobacterium Tuberculosis*. *Buletin Farmatera*, 3(3), 129-146.
- Sjafaraenan, S., Lolodatu, H., Johannes, E., Agus, R., & Sabran, A. (2018). Profil DNA Gen Follicle Stimulating Hormone Receptor (Fshr) pada Wanita Akne dengan Teknik PCR dan Sekuensing DNA. *BIOMA: Jurnal Biologi Makassar*, 3(1), 1-11.
- Sofihan, W. (2017). Isolasi, Amplifikasi dan Karakterisasi Gen *pef Salmonella typhimurium* dan GEN *fim-C Escherichia coli*. *Doctoral dissertation*, Universitas Negeri Jakarta).
- Solyman, M. S. M., Ujczó, J., Brayton, K. A., Shaw, D. K., Schneider, D. A., & Noh, S. M. (2022). Iron Reduction in *Dermacentor andersoni* Tick Cells Inhibits *Anaplasma marginale* Replication. *International journal of molecular sciences*, 23(7), 3941.

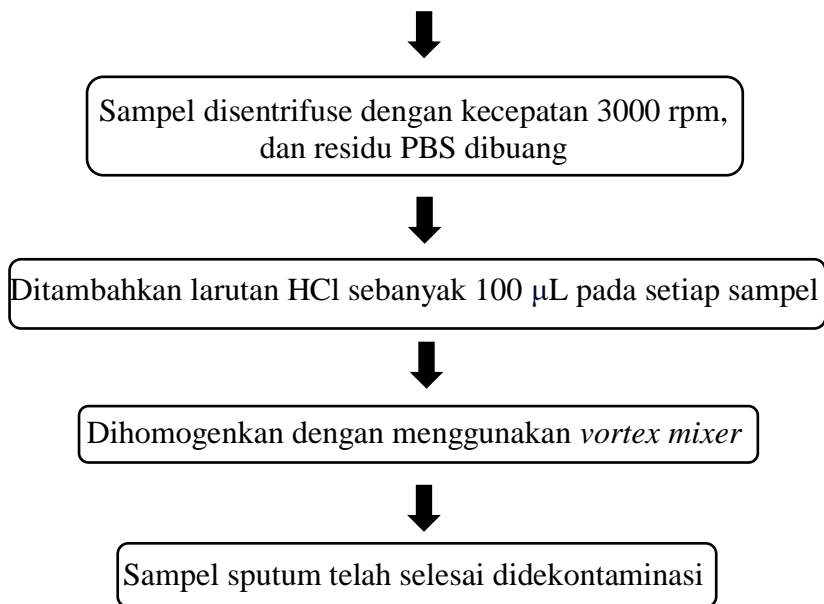
- Surzycki, S. 2000. *Basic Techniques in Molecular Biology*. Springer Lab Manual. New York. Pp : 406 – 414
- Syafa'ah, I., & Yudhawati, R. (2016). Peran Imunitas Mukosa Terhadap Infeksi *Mycobacterium Tuberculosis*. *Jurnal Respirasi*, 2(2), 61-68.
- Tilawah, S. (2019). Optimasi Volume DNA Marker dan Volume DNA Hasil Amplifikasi Gen TetI Resistensi Antibiotik Tetrasiklin dari Bakteri *Bacillus cereus* pada Pasien Ulkus Diabetik. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 4(1).
- Todar, Kenneth. (2020). *Mycobacterium tuberculosis and Tuberculosis*. *Todar's Online Textbook of Bacteriology*. Diakses pada tanggal 10 Desember 2022. <https://textbookofbacteriology.net/tuberculosis.html>
- Uniprot. Gene fbpA *Mycobacterium tuberculosis*. Diakses pada tanggal 10 Desember 2022. <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P9WQP3/entry>
- Verma, G., & Kashyap, P. (2021). Decontamination Methods for Tuberculosis: A Review. *Asian Journal of Advances in Medical Science*, 14-21.
- Wahdi, A., & Puspitosari, D. R. (2021). Mengenal Tuberkulosis, Klasifikasi TBC, Cara Pemberantasan, Asuhan Keperawatan TBC Dengan Aplikasi 3S (SDKI, SLKI & SIKI).
- Wahyu, V. L. (2019). Gambaran Tingkat Kepatuhan Pada Pengobatan TBC (Tuberculosis) Fase Akut di Oro-Oro Dowo Malang Tahun 2019. *Doctoral dissertation*, University of Muhammadiyah Malang.
- Wangka, M., Wullur, S., Angkouw, E., Mamuaja, J., Tumbol, R., & Ginting, E. L. (2020). Analysis of Bacteria Community in the sediment from Bangka Island, North Sulawesi. *Jurnal Ilmiah PLATAX*, 8(2), 196-203.
- WHO (World Health Organization). (2022). *Global Tuberculosis Report 2022*. Geneva, Swiss: World Health Organization.
- Yaqin, K. (2019). *Petunjuk Praktis Aplikasi Biomarker Sederhana*. Upt Unhas Press.
- Yuni, I. D. A. M. A., & Arda, D. A. M. (2016). Hubungan Fase Pengobatan TB dan Pengetahuan tentang MDR TB dengan Kepatuhan Pengobatan Pasien TB. *Jurnal berkala epidemiologi*, 4(3), 301-312.
- Yuni, I. D. A. M. A., & Arda, D. A. M. (2016). Hubungan Fase Pengobatan TB dan Pengetahuan tentang MDR TB dengan Kepatuhan Pengobatan Pasien TB. *Jurnal berkala epidemiologi*, 4(3), 301-312.

LAMPIRAN

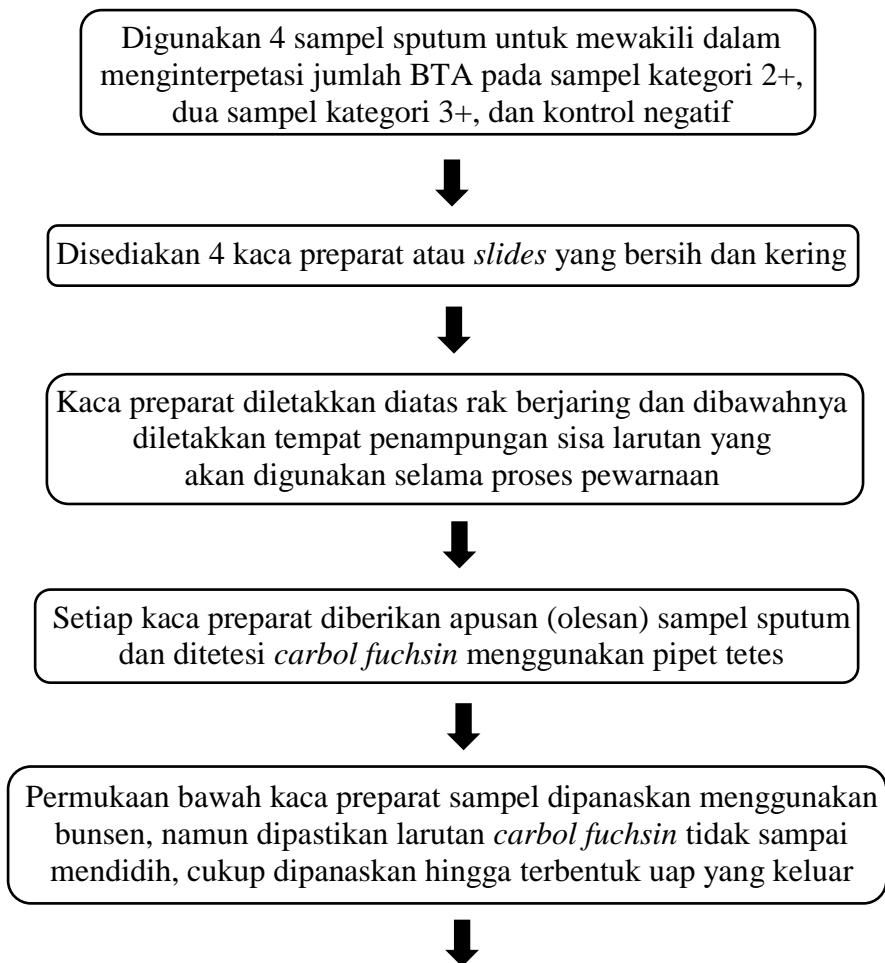
A. Kerangka Alur Kerja Penelitian

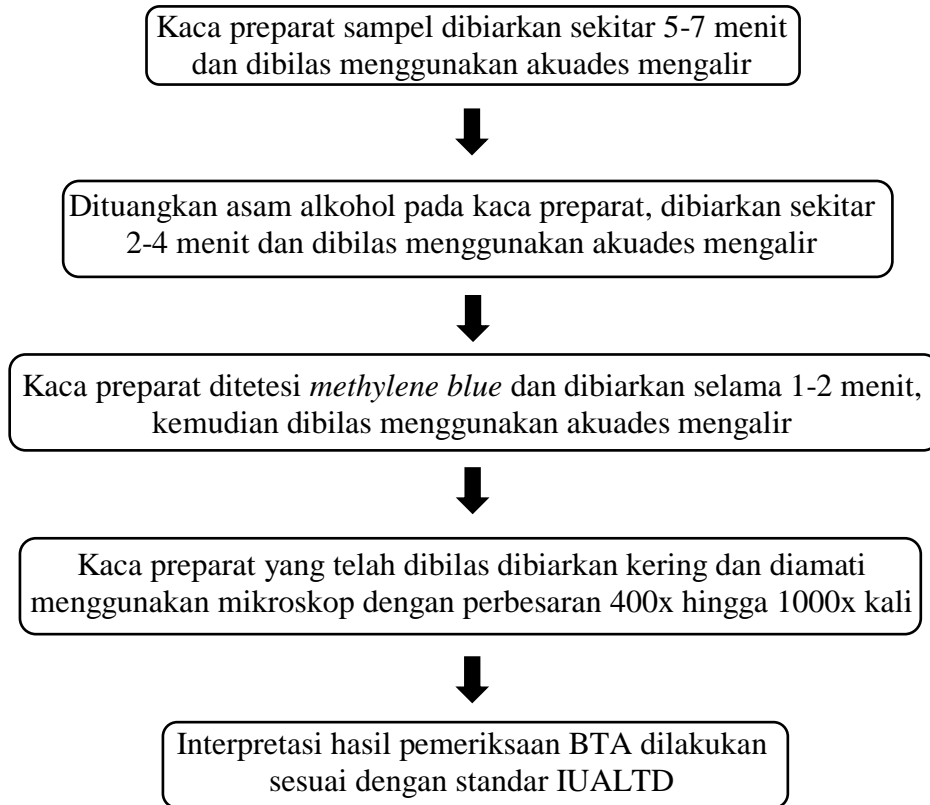
1. Dekontaminasi Sampel Sputum



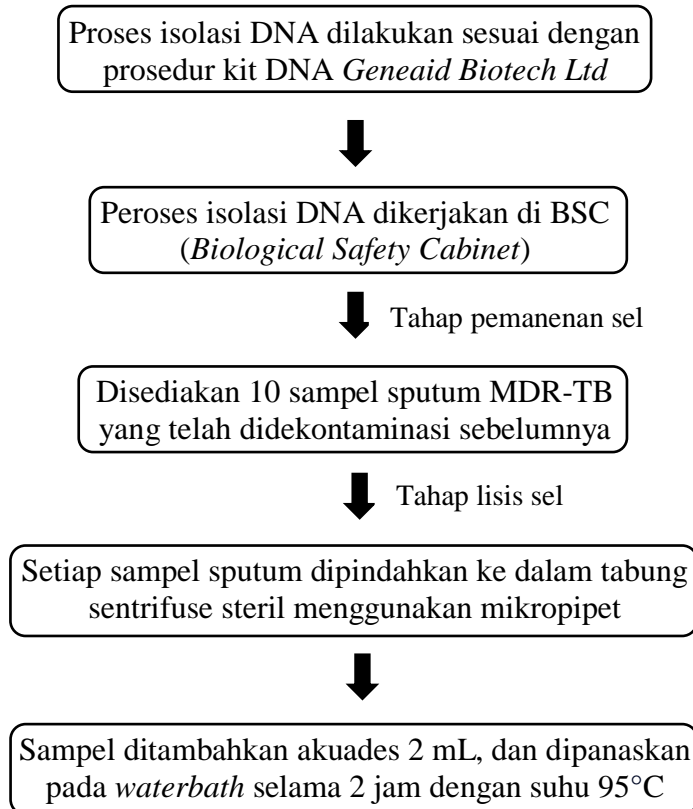


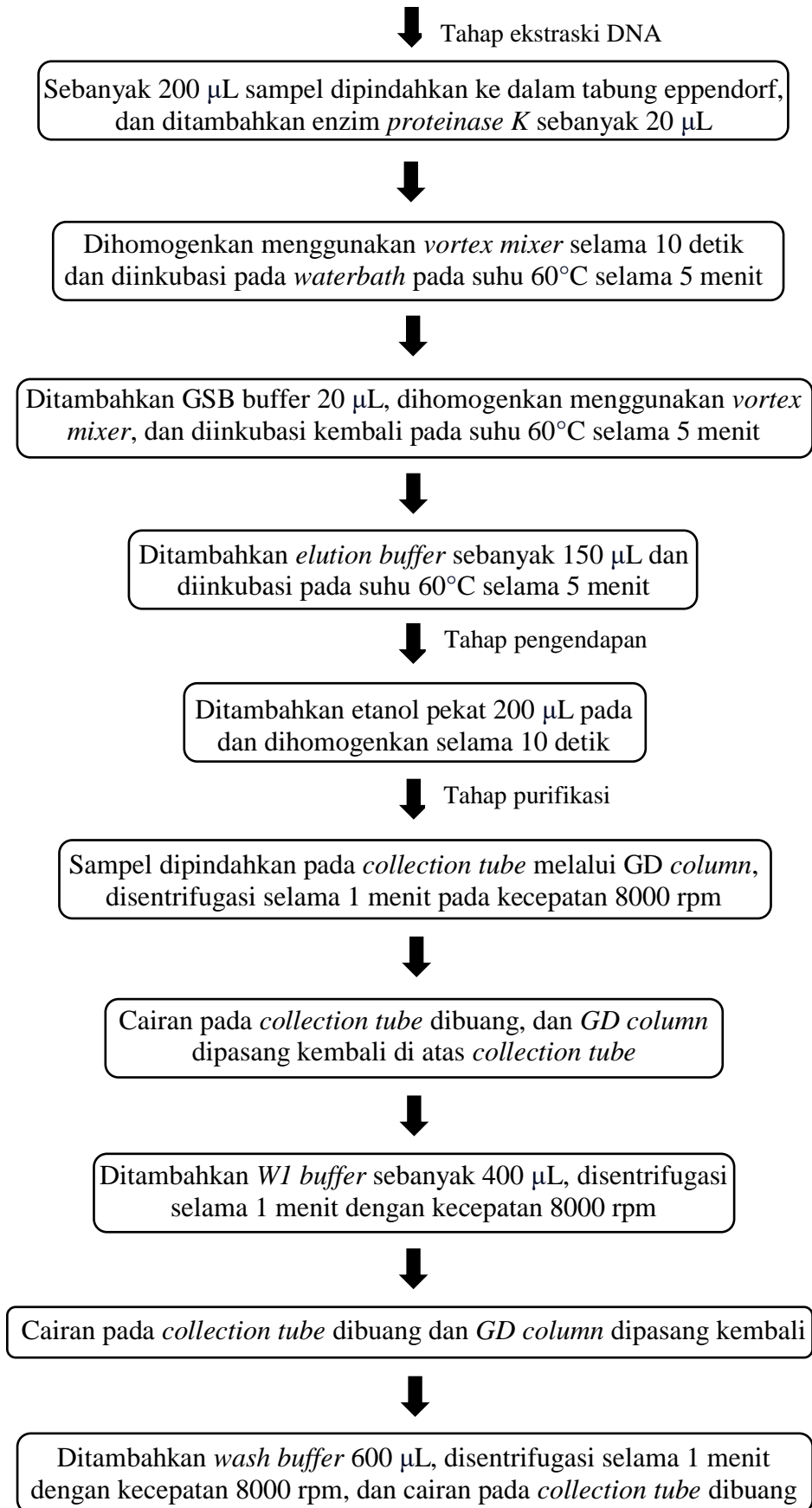
2. Pewarnaan ZN dan Pemeriksaan BTA

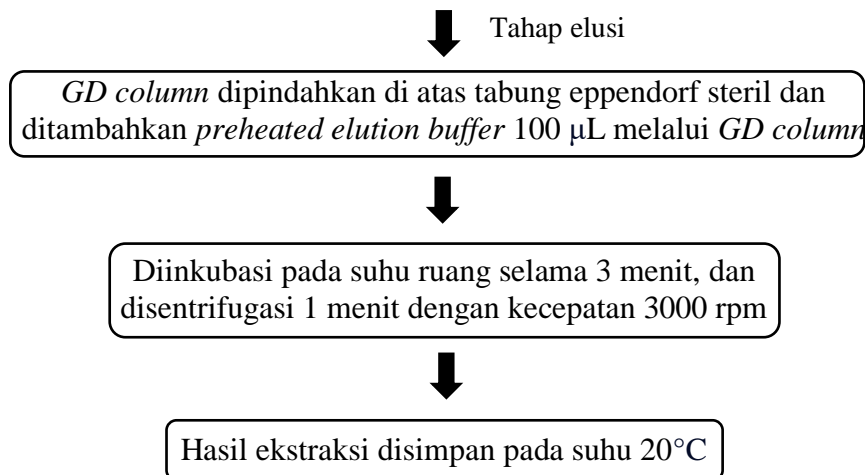




3. Isolasi DNA







4. Amplifikasi dengan Teknik PCR

- **Desain primer dan program BLAST**

Primer forward dan reverse diperoleh dari jasa desain primer



Kedua primer diuji similaritasnya terhadap gen *fbpA* menggunakan program BLAST pada situs NCBI yang diakses melalui laman <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

- **Pembuatan PCR mix**

Dibuat PCR mix total volume 25 μ L* dengan komposisi;

1. Enzim *gotaq green polymerase* 12.5 μ L
2. Primer forward 0,5 μ L
3. Primer reverse 0,5 μ L
4. *Double distilled water* ddH₂O 6,5 μ L
5. Sampel DNA 5 μ L

*Volume PCR dapat ditingkatkan 2-3 μ L jika kurang



PCR mix dimasukkan ke dalam 13 tabung vial* PCR menggunakan mikropipet sebanyak 2 μ L tiap tabung vial

*Setiap tabung diberi nomor sesuai dengan jenis sampel *Mycobacterium tuberculosis*

- **PCR**

Setiap sampel dimasukkan ke dalam mesin *DNA Thermal Cycler*



Mesin termosiklus diatur dengan pengaturan;

- Tahap predenaturasi 10 menit – suhu 94°C
- Tahap denaturasi 45 detik – suhu 95°C
- Tahap annealing 1 menit – suhu 56,8°C
- Tahap extension 1 menit – suhu 72°C
- Terdiri atas 30 siklus



Setelah selesai, setiap sampel dalam tabung vial PCR dikeluarkan dari mesin, dan segera disiapkan untuk tahap elektroforesis gel

5. Elektroforesis Produk PCR

Pembuatan gel agarosa 2%: sebanyak 4 gr bubuk agarosa dilarutkan dalam 100 mL *TBE buffer* dengan konsentrasi 0.5% di dalam labu erlenmeyer



Dipanaskan dalam *microwave* hingga larut berwarna jernih dan didiamkan sampai suhu kurang lebih 60°C



Larutan ditambahkan EtBr 10 µL, dituang ke dalam *gel tray* dan dipasang sisir pembentuk sumur sebanyak 13 sumur



Gel dibiarkan sampai mengeras dan sisir dilepas



Tray yang berisi gel agarosa diletakkan pada tank elektroforesis dan ditambahkan *TBE buffer* hingga gel agarosa terendam sekitar 1 mm di atas permukaan gel



Sebanyak 2 μ PCR mix dicampur dengan 2 μ L *loading dye* yang diletakkan di kertas parafilm, dan diaduk sampai rata



Larutan dimasukkan ke dalam sumur gel agarosa (tiap sumur satu larutan DNA) menggunakan mikropipet dengan urutan sampel 1, 2, 3, 4, 5, 6, M, K-, K+, 7, 8, 9, 10



DNA ladder 100 bp sebagai marker dimasukkan pada sumur paling tengah sebanyak 5 μ L



Tank elektroforesis ditutup dan dihubungkan dengan *power supply* dengan tegangan 100 Volt selama 50 menit



Setelah proses elektroforesis selesai, arus listrik dimatikan dan *tray* diambil dengan menggunakan sarung tangan



Gel diletakkan di atas UV transiluminator yang terdapat pada *gel documentation*



Diamati pita DNA hasil amplifikasi gen *fbpA* sebesar 900 bp yang muncul pada komputer dan didokumentasi dengan kamera digital

B. Dokumentasi Penelitian

1. Dekontaminasi Sampel Sputum



2. Pewarnaan ZN



3. Isolasi DNA



4. Amplifikasi PCR



5. Elektroforesis gel

