

TESIS

**DETEKSI RESISTENSI INH DENGAN MAS-PCR PADA
BILASAN LAMBUNG PASIEN ANAK DI MAKASSAR**

SITTI HADIJAH

P1506210014



**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2012

**DETEKSI RESISTENSI INH DENGAN MAS-PCR PADA
BILASAN LAMBUNG PASIEN ANAK DI MAKASSAR**

**Detection of INH Resistance with MAS-PCR in Gastric Lavage
on Children Patients in Makassar**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Derajat
Magister

Program Studi Biomedik
Kekhususan Mikrobiologi

Disusun dan Diajukan Oleh

SITTI HADIJAH

P1506210014

Kepada

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
2012**

TESIS

DETEKSI RESISTENSI INH DENGAN MAS-PCR PADA BILASAN LAMBUNG PASIEN ANAK DI MAKASSAR

Disusun dan diajukan oleh:

SITTI HADIJAH

No Pokok P1506210014

**Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian Tesis
pada tanggal 3 Agustus 2012
dan dinyatakan telah memenuhi syarat**

**Menyetujui
Komisi Penasihat**

Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D
Ketua

Dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc., Ph.D
Anggota

Mengetahui

Ketua Program Studi
Biomedik

Direktur Program Pascasarjana
Universitas Hasanuddin

Prof. dr. Rosdiana Natsir, Ph. D

Prof. Dr. Ir. Mursalim

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini

Nama : **Sitti Hadijah**
Nomor Induk Mahasiswa : **P1506210014**
Program Studi : **Biomedik**

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa tesis ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut

Makassar, Agustus 2012

Yang menyatakan

Sitti Hadijah

PRAKATA

Tiada kata yang pantas penulis ucapkan selain puji syukur atas kehadiran Allah SWT, atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nyalah sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul “*Deteksi Resistensi INH Dengan MAS-PCR Pada Bilasan Lambung Pasien Anak di Makassar*”. Tesis ini disusun sebagai salah satu persyaratan akademik untuk mencapai gelar Magister Kesehatan pada Program Studi Biomedik Mikrobiologi Pascasarjana Universitas Hasanuddin.

Dalam penelitian maupun penyusunan tesis ini penulis mendapatkan banyak tantangan dan kesulitan, namun karena pertolongan Allah SWT, Kerja keras dan bantuan dari berbagai pihak, kesulitan tersebut dapat diatasi. Untuk itu dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, PhD. Sebagai ketua komisi penasehat yang dengan ikhlas meluangkan waktunya untuk membimbing dan mengarahkan penulis serta senantiasa memberikan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan baik, serta sebagai Ketua Jurusan Mikrobiologi Molekuler dan Immunologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin atas sarana dan fasilitas yang menunjang penelitian ini. Ucapan terima kasih juga kepada Dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc., Ph.D selaku anggota komisi penasehat atas bantuan, bimbingan, doa dan motivasinya mulai dari awal penelitian hingga akhir

penulisan tesis ini. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada Prof. Ahyar Ahmad, PhD., Prof. Dr. dr. Asaad Maidin M.Sc.,SpMK (K) dan Dr. dr. Burhanuddin Bahar selaku komisi penguji atas arahan dan juga masukannya yang sangat membantu dalam penulisan tesis ini. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada seluruh staf dosen Biomedik-Mikrobiologi atas segala ilmu yang telah diberikan kepada penulis.

Terkhusus untuk Ibunda tersayang Andi Asriany dan suamiku tercinta Andi Asyrapul Rijal serta saudara-saudariku terkasih, penulis mengucapkan beribu-ribu terima kasih atas segala dukungannya, curahan kasih sayang, perhatian dan semangat serta doa restu yang tulus setiap saat.

Tak lupa pula penulis ucapkan terima kasih kepada rekan-rekan seperjuanganku “MIKROBIOLOGI 2010” (Dewi, Kanda Yudit, Dinda Misna, Dinda Tuti, Dinda Syarif, Dinda Subair, Dinda Suher, Dinda Hijral, Dinda Riska, Dinda Ika, Dinda Dwi, Dinda Ratna, Dinda Naim, Dinda Zul, Dinda Ida, Dinda Nanang) yang senantiasa memberikan motivasi dan senantiasa berbagi pengalaman yang dapat memperluas dan menambah wawasan penulis. Terkhusus juga buat dinda Anita, dinda Handayani, dan dinda Kurnia yang telah begitu banyak membantu penulis dalam pelaksanaan penelitian ini.

Terima kasih pula kepada semua pihak dan teman-teman yang tidak penulis sebutkan satu demi satu yang dengan keikhlasannya memberikan

bantuan serta senantiasa mendoakan untuk kelancaran dalam penelitian dan keberhasilan penulisan tesis ini.

Harapan penulis semoga tesis ini dapat bermanfaat terutama bagi pengembangan ilmu pengetahuan, sesungguhnya semua terwujud atas petunjuk Allah SWT, semata. Mudah-mudahan Ridha-Nya senantiasa mengiringi setiap langkah dan usaha kita semua. Amin.

Makassar, 3 Agustus 2012

Sitti Hadijah

ABSTRAK

SITTI HADIJAH. *Deteksi Resistensi INH Dengan MAS-PCR Pada Bilasan Lambung Pasien Anak Di Makassar (Dibimbing oleh Nasrum Massi, dan Rizalinda Sjahril).*

Penelitian ini Bertujuan melihat adanya resistensi INH pada *Mycobacterium tuberculosis* dari suspek TB anak dan mendeteksi resistensi *Mycobacterium tuberculosis* pada INH dengan menggunakan sampel bilasan lambung pasien anak Suspek TB dengan metode MAS-PCR

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dari 50 sampel bilasan lambung pasien anak berdasarkan pewarnaan ZN didapatkan hasil yang negative dan kultur pada media LJ terdapat 2 yang positif kultur. Hasil analisis molekuler berdasarkan metode MAS-PCR terdapat 13 (26%) sampel yang positif *Mycobacterium tuberculosis*, Hal ini terlihat dari hasil elektroforesis gel pada ke 13 sampel yang memperlihatkan adanya pita DNA yang dihasilkan pada 193bp *inhA*, 296bp *katG*, 383bp *ahpC*, dan 473bp *oxyR* sebagai spesifik kontrol *Mycobacterium tuberculosis*, 1 (2%) sampel positif *Mycobacterium tuberculosis* yang resisten terhadap INH karena gen *inhA*, *katG* dan *ahpC* tidak teramplifikasi yang berarti terjadi mutasi pada gen-gen tersebut, mutasi ini yang menyebabkan terjadinya resistensi terhadap INH dan 37 (74%) sampel adalah negatif *Mycobacterium tuberculosis*. Kesimpulan dari penelitian ini adalah 12 (24%) sampel positif *Mycobacterium tuberculosis* yang susceptible, 1(2%) sampel resisten INH dan 37(74%) sampel negative *Mycobacterium tuberculosis* , dimana sampel bilasan lambung representative untuk dijadikan sampel pemeriksaan TB pada pasien anak.

Kata Kunci : *Mycobacterium tuberculosis*, MAS-PCR, Resistensi INH, bilasan lambung.

ABSTRACT

SITTI HADIJAH. *Detection of INH Resistance with MAS-PCR in Gastric Lavage on Children Patients in Makassar* (Supervised by **Muh.Nasrum Massi** and **Rizalinda sjahril**)

The objectives of the research were to find out the occurrence of INH resistance in *Mycobacterium tuberculosis* in children with suspected TB and to detected INH resistance in *Mycobacterium tuberculosis*.

The research used gastric lavage samples of pediatric patients with suspected TB. It used the MAS-PCR method.

The study reveals a negative result based on ZN staining and there is two positif cultures on LJ medium of 50 samples of pediatric patients' gastric lavage. The research results of molecular analysis with MAS-PCR method using *InhA*, *katG*, *ahpC* and *OxyR* primer as internal control, reveal that 13 samples (26%) are positive *Mycobacterium tuberculosis*, this is evident in the results of gel electrophoresis in 13 samples that reveal the presence of DNA bands generated in *InhA* 193bp, 296bp *katG*, *ahpC* 383bp, and 473bp *oxyR* as the *Mycobacterium tuberculosis* control, there is 1 sample (2%) resistant *Mycobacterium tuberculosis* because the *InhA*, *katG*, *ahpC* primers not amplified and 37 samples (74%) are negative of *Mycobacterium tuberculosis*. The conclusion is 12 samples (24%) susceptible *Mycobacterium tuberculosis*, 1 sample (2%) resistant to INH, and gastric lavage representative to be samples of TB examination in pediatric patients.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*, MAS-PCR, INH resistance, Gastric Lavage

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	iv
PRAKATA	v
ABSTRAK	viii
ABSTACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah.....	7
C. Tujuan Penelitian.....	7
D. Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tinjauan Umum Penyakit TB.....	9
a. karakteristik Mycobacterium tuberculosis.....	10

b. Patogenesis TB.....	18
c. Gejala TB.....	23
d. TB Pada Anak.....	28
B. Diagnosis.....	30
a. Diagnosis TB Anak.....	30
b. Sistem Skoring.....	32
C. Obat Anti TB.....	37
a. Isoniazid.....	37
b. Mekanisme Tingkat Molekul Resistensi terhadap Obat antituberculosis Isoniazid (INH).....	39
D. Polymerase Chain Reaction.....	41
E. Kerangka Konseptual.....	47
F. Defenisi Operasional.....	52
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	53
A. Rancangan Penelitian.....	53
B. Waktu dan Tempat Penelitian.....	53
C. Sampel dan Kriteria Sampel.....	53
D. Alat dan Bahan Penelitian.....	54
E. Cara Kerja.....	55
F. Analisis Data.....	61
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	62

A. Hasil Penelitian	62
B. Pembahasan	68
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	73
A. Kesimpulan	73
B. Saran	73
DAFTAR PUSTAKA.....	74
LAMPIRAN.....	78

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Sistem Skoring (Scoring System) Gejala dan Pemeriksaan Penunjang TB.....	33
2. Hasil Pewarnaan BTA dan Kultur Pada Media LJ Bilasan Lambung Pasien Anak di Makassar.....	80
3. Hasil Amplifikasi MAS-PCR Sampel Bilasan Lambung Pasien Anak	82
4. Hasil Pengukuran Konsentrasi DNA Sampel Bilasan Lambung Pasien Anak diMakassar.....	84

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Patogenesis infeksi TB.....	12
2. Sel <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	14
3. Morfologi <i>Mycobacterium tuberculosis</i> setelah diwarnai	15
4. Gambaran Pathogenesis TB.....	26
5, 6. Penyebaran Droplet Kuman TB.....	27
7. Alur Deteksi Dini dan Rujukan TB Anak.....	36
8. Proses PCR.....	43
9. Hasil Analisis MAS-PCR Sampel Bilasan Lambung Yang Diampifikasi dengan Primer <i>inhA</i> , <i>KatG</i> , <i>ahpC</i> , dan <i>oxyR</i>	64
10. Hasil Analisis MAS-PCR Sampel Bilasan Lambung Yang Diampifikasi dengan Primer <i>inhA</i> , <i>KatG</i> , <i>ahpC</i> , dan <i>oxyR</i>	64
11. Hasil Analisis MAS-PCR Sampel Bilasan Lambung Yang Diampifikasi dengan Primer <i>inhA</i> , <i>KatG</i> , <i>ahpC</i> , dan <i>oxyR</i>	65
12. Hasil Analisis MAS-PCR Sampel Bilasan Lambung Yang Diampifikasi dengan Primer <i>inhA</i> , <i>KatG</i> , <i>ahpC</i> , dan <i>oxyR</i>	66
13. Pertumbuhan Koloni <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada Medium LJ..	67

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Alur Kerja Penelitian.....	78
2. Skema Proses Dekontaminasi.....	79
3. Hasil pewarnaan BTA dan Kultur pada Media LJ Bilasan Lambung pasien Anak di Makassar.....	80
4. Hasil Amplifikasi MAS-PCR Sampel Bilasan Lambung Pasien Anak di Makassar.....	82
5. Hasil Pengukuran Konsentrasi DNA Sampel Bilasan Lambung Pasien Anak di Makassar.....	84
6. Pertumbuhan Koloni Mycobacterium tuberculosis pada medium LJ.....	85
7. Posisi primer <i>katG</i> dan <i>ahpC</i> pada Genom complete H37RV..	86

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit infeksi akibat kuman *Mycobacterium* yang bersifat sistematis (menyeluruh) sehingga dapat mengenai hampir seluruh organ tubuh, dengan lokasi terbanyak di paru-paru yang biasanya merupakan lokasi infeksi yang pertama kali terjadi.

Pada tahun 2009, insiden TB global diperkirakan ada 9,4 juta (kisaran, 8,9 juta – 9,9 juta) (Setara dengan 137 kasus per 100 000 penduduk). Jumlah mutlak kasus terus meningkat dari tahun ke tahun, seperti penurunan secara lambat, tingkat insiden per kapita yang sebanding dengan peningkatan populasi. Perkiraan jumlah kasus dikelompokkan menurut usia dan jenis kelamin dimana hasil studi menunjukkan bahwa jumlah kasus pada perempuan diperkirakan 3,3 juta kasus (kisaran, 3,1 – 3,5 juta), setara dengan 35% dari semua kasus (WHO, 2010).

Pada tahun 1989, WHO memperkirakan bahwa setiap tahun terdapat 1,3 juta kasus baru TB anak dan 450.000 anak usia <15 tahun meninggal dunia karena TB. Kasus baru diperkirakan akan meningkat setiap tahun dari 7,5 juta kasus (143 kasus per 100.000 penduduk) pada tahun 1990, menjadi

8,8 juta kasus (152 kasus per 100.000 penduduk) pada tahun 1995, menjadi 10,2 juta kasus (163 kasus per 100.000 penduduk) pada tahun 2000 dan akan mencapai 11,9 juta kasus pada tahun 2005 (IDAI, 2008).

Tuberkulosis masih merupakan masalah kesehatan masyarakat dan merupakan factor penting tingginya angka morbiditas maupun mortalitas di beberapa negara (Chamla, *et al* , 2002 ; CDC, 2010). TB primer pada anak kurang membahayakan masyarakat karena kebanyakan tidak menular, tetapi bagi anak itu sendiri cukup berbahaya oleh karena timbul TB ekstra torakal yang seringkali menjadi sebab kematian dan menimbulkan cacat misalnya TB meningitis, infeksi telinga, ginjal, TB tulang dan sendi (Crofton J, *etal*, 1992; Keep Kids Healthy, 2001 ; CDC, 2010).

Total insiden TB selama 10 tahun, dari tahun 1990-1999 diperkirakan sebanyak 88,2 juta penyandang TB dengan infeksi HIV. Selama tahun 1985-1992 peningkatan TB paling banyak terjadi pada usia 25-44 tahun (54,5%), diikuti oleh usia 0-4 tahun (36,1%) dan 5-12 tahun (38,1%). Pada tahun 2005, diperkirakan kasus TB naik 58% dari tahun 1990, dimana 90% diantaranya terjadi di negara berkembang. Di Amerika Serikat dan Kanada, peningkatan kasus TB pada anak berusia 0-4 tahun adalah 19%, sedangkan pada usia 5-15 tahun adalah 40%. Di Asia Tenggara, selama 10 tahun diperkirakan bahwa jumlah kasus baru adalah 35, 1 juta, dimana 8% diantaranya (2,8 juta) disertai infeksi HIV. Menurut WHO (2009), Indonesia menduduki peringkat

ketiga dalam jumlah kasus baru TB (0,4 juta kasus baru) setelah India (2,1 juta kasus) dan Cina (1,1 juta kasus). Sebanyak 10% dari seluruh kasus terjadi pada anak berusia < 15 tahun (IDAI, 2008).

Sebagian besar dari perkiraan jumlah kasus pada tahun 2009 terjadi di Asia (55%) dan Afrika (30%); 3 proporsi kasus yang lebih kecil kasus terjadi di daerah Mediterania Timur (7%), daerah Eropa (4%) dan Daerah Amerika (3%). Lima negara dengan jumlah terbesar kasus insiden pada tahun 2009 adalah India (1,6-24 juta), Cina (1,1-15 juta), Afrika Selatan (0,4-0,59 juta), Nigeria (0,37- 0.55 juta) dan Indonesia (0,35- 0.52 juta) (WHO, 2010).

Berdasarkan SKRT 1995, TB merupakan urutan ke tiga sebagai penyebab kematian setelah penyakit saluran nafas dan kardiovaskuler. Permasalahannya bukan saja dalam menentukan diagnosis pasti, tetapi juga termasuk tata laksana secara menyeluruh (Depkes, 1999; IDAI, 2008).

Pada tahun 2007, insidensi TB di Indonesia berdasarkan pemeriksaan sputum (basil tahan asam/ BTA positif) adalah 228 per 100.000 orang. Perkiraan prevalensi TB adalah 244 per 100.000 orang dan kematian akibat TB adalah 39 per 100.000 orang/tahun. Angka kejadian dan prevalensi TB anak di Indonesia belum ada. Hal ini karena sulitnya diagnosis TB anak. Laporan mengenai TB anak jarang didapatkan. Diperkirakan jumlah kasus TB anak per tahun adalah 5-6% dari total kasus tuberkulosis.

Berdasarkan laporan tahun 1985, dari 1261 kasus TB anak berusia < 15 tahun, 63% diantaranya berusia <5 tahun (IDAI, 2008; WHO, 2009).

Sejak ditemukannya kuman *Mycobacterium tuberculosis* oleh Robert Koch pada tahun 1882, upaya pemberantasan penyakit TB terus ditingkakan, namun angka penderita baru di dunia diperkirakan 90 juta per tahun dan angka kematian di dunia 30 juta per tahun pada akhir dekade ini.

Menurut Rattan A. dkk, dalam Paul, angka kematian tiap minggu 52,000 orang atau tiap hari lebih dari 7000 orang yang meninggal. Pengobatan dan kontrol terhadap penyakit TB telah dilakukan, tetapi akhir - akhir ini dilaporkan timbulnya resistensi kuman TB terhadap INH dan Rifampisin di Amerika Serikat dan negara lainnya di dunia (resistensi multipel). Terdapatnya resistensi multipel obat (MDR=*multiple drug resistance*) terhadap *Mycobacterium tuberculosis*, tercermin pada meningkatnya angka kasus baru dan angka kematian serta kurang berhasilnya pengobatan terhadap penyakit TB. Pengobatan terhadap penyakit TB memerlukan waktu yang lama dan adekuat, hal ini merupakan problem kesehatan masyarakat di seluruh dunia (Boekitwetan, 1999).

Obat INH dan Rifampicin merupakan obat lini pertama dalam pengobatan TB, namun dalam proses penggunaan obat ini sering terjadi resistensi. Walaupun INH tetap merupakan obat kemoterapi dan obat profilaksis yang utama untuk pengobatan TB, namun peningkatan resistensi

telah mempengaruhi penggunaan obat ini dimasa yang akan datang Untuk itu dalam proses pengobatan terhadap pasien TB diperlukan hasil DST (drug susceptibility test) yang dapat dipercaya oleh pasien dan sebagai referensi untuk pemberian obat (Rosana, 2005; Siu *et al.*, 2010)

Penyakit TB pada anak merupakan penyakit yang bersifat sistemik, yang dapat bermanifestasi pada berbagai organ, terutama paru. Sifat sistemik ini disebabkan oleh penyebaran hematogen dan limfogen setelah terjadi infeksi *Mycobacterium tuberculosis*. Data insiden dan prevalensi TB anak tidak mudah. Dengan penelitian indeks tuberkulin dapat diperkirakan angka kejadian prevalensi TB anak. Kriteria masalah TB di suatu negara adalah kasus BTA positif per satu juta penduduk. Jadi sampai saat ini belum ada satu negara pun yang bebas TB (Anonim, 2011).

Tuberkulosis pada anak mencerminkan transmisi TB yang terus berlangsung di populasi. Masalah ini masih memerlukan perhatian yang lebih baik dalam program pengendalian TB. Secara umum, tantangan utama dalam program pengendalian TB anak adalah kecenderungan diagnosis yang berlebihan (*overdiagnosis*), disamping juga masih adanya *underdiagnosis*, penatalaksanaan kasus yang kurang tepat, pelacakan kasus yang belum secara rutin dilaksanakan serta kurangnya pelaporan pasien TB anak. Tantangan tersebut juga dihadapi oleh rumah sakit atau FPK yang telah menerapkan strategi DOTS (Laila, 2004).

Pada pasien anak yang tidak menimbulkan gejala, TB dapat terdeteksi kalau diketahui adanya kontak dengan pasien TB dewasa. Kira-kira 30-50% anak yang kontak dengan penderita TB paru dewasa memberikan hasil *uji tuberkulin* positif. Pada anak usia 3 bulan sampai 5 tahun yang tinggal serumah dengan penderita TB paru dewasa dengan BTA positif, dilaporkan 30% terinfeksi berdasarkan pemeriksaan serologi/darah (Anonim, 2012; Supriyatno B. dkk, 2002).

Diagnosis pasti TB anak adalah ditemukannya *Mycobacterium tuberculosis* dari sputum, cairan bilasan lambung, cairan pleura, atau yang lainnya. Selain biaya pemeriksaan yang mahal, dan perlu waktu yang lama, sulitnya mendapatkan hasil positif merupakan kendala pemeriksaan biakan *Mycobacterium tuberculosis* sehingga gejala klinis dan pemeriksaan penunjang lainnya dapat digunakan sebagai pedoman diagnostic (Raharjo, 1994; Supriyatno B. dkk, 2002).

Pada pemeriksaan bakteriologis tuberkulosis, untuk mendapatkan bahan pemeriksaan bakteriologis berupa sputum pada anak sangat sukar, sebagai gantinya biasanya dilakukan pengambilan bilasan lambung karena cairan lambung mengandung sputum yang tertelan (IDAI, 2008)

Berdasarkan hal ini, dan mengingat pentingnya efisiensi waktu pemeriksaan TB, perlu dikembangkan suatu metode yang cepat dan aman untuk mendeteksi resistensi obat TB pada anak, diantaranya dengan menggunakan metode MAS-PCR.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah telah terjadi resistensi *Mycobacterium tuberculosis* terhadap INH pada suspek TB anak?
2. Apakah resistensi INH pada suspek TB anak dapat di deteksi menggunakan sampel bilasan lambung dengan metode MAS-PCR?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Untuk melihat adanya resistensi INH pada *Mycobacterium tuberculosis* dari suspek TB anak.
2. Untuk mendeteksi resistensi *Mycobacterium tuberculosis* pada INH menggunakan sampel bilasan lambung pasien anak suspek TB dengan metode MAS-PCR

D. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian adalah :

1. Hasil penelitian ini dapat menjadi bahan pertimbangan pada pemberian obat terhadap pasien anak suspek TB jika telah terjadi resistensi obat dan dapat menjadi bahan pertimbangan bagi unit pelayanan kesehatan

pada pemeriksaan laboratorium menggunakan sampel bilasan lambung pasien anak suspek TB.

2. Hasil penelitian ini dapat menjadi salah satu informasi Dinas Kesehatan Propinsi Sulawesi Selatan menangani masalah TB pada anak.
3. Untuk menambah wawasan peneliti mengenai penyakit TB anak dan MAS-PCR serta dapat dijadikan rujukan untuk peneliti selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan umum penyakit TB

Penyakit TB adalah penyakit menular langsung yang disebabkan oleh kuman *Mycobacterium tuberculosis*. Sebagian besar kuman TB menyerang paru, tetapi dapat juga mengenai organ tubuh lainnya. Bakteri biasanya menyerang paru-paru, namun bakteri TB dapat menyerang bagian tubuh seperti ginjal, tulang belakang, dan otak. Jika tidak ditangani dengan benar, penyakit TB dapat berakibat fatal (CDC, 2010).

Kuman ini berbentuk batang, mempunyai sifat khusus yaitu tahan asam pada pewarnaan. Oleh karena itu disebut pula sebagai Basil Tahan Asam (BTA). Kuman TB cepat mati dengan sinar matahari langsung, tetapi dapat bertahan hidup beberapa jam di tempat yang gelap dan lembab. Dalam jaringan tubuh, kuman ini dapat dormant, tertidur lama selama beberapa tahun (Depkes, 2006).

Mycobacterium tuberculosis bersifat aerob obligat, sehingga selalu ditemukan pada lobus paru-paru bagian atas yang teraerasi dengan baik. Basil ini merupakan parasit intersel fakultatif yang umumnya terdapat dalam makrofag. *Mycobacterium tuberculosis* memiliki struktur dinding sel yang

unik di antara prokariot lainnya, dan merupakan penentu utama virulensi dari bakteri ini. Kompleks dinding sel mengandung peptidoglikan dan juga kompleks lipid. Lebih dari 60% dari dinding sel mikobakteri adalah lipid. Fraksi lipid dinding sel *Mycobacterium tuberculosis* terdiri dari tiga komponen utama yaitu, asam mikolat, faktor cord, dan Waks-D (lilin) (Todar, 2005).

Lima puluh persen berat kering amplop *Mycobacterium tuberculosis* berupa asam mikolat. Asam mikolat merupakan molekul hidrofob yang kuat membentuk lapisan lipid mengelilingi organisme, yang berperan dalam permeabilitas permukaan sel. Asam ini dianggap penting untuk virulensi dari *Mycobacterium tuberculosis* yang kemungkinan juga mencegah serangan dari proteolitik, lisozim, dan radikal oksigen dalam granula fagositosis. Selain itu juga melindungi *Mycobacterium tuberculosis* ekstraseluler dari deposisi komplemen dalam serum. Faktor Cord merupakan racun bagi sel-sel mamalia dan juga merupakan penghambat migrasi PMN (*polimorfonuclear*) (Todar, 2005).

a. Karakteristik *Mycobacterium tuberculosis*

TB merupakan penyakit yang terjadi akibat infeksi *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium Bovis* atau *Mycobacterium Africanum*. Penyakit ini diketahui mengenai hampir seluruh organ tubuh dalam bentuk TB paru dan TB ekstraparu. Dikenal istilah *Koch pulmonum* yaitu penyakit paru yang

disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* (Ditjen PPM dan PL Depkes, 2004).

Klasifikasi berdasarkan organ tubuh yang terkena, adalah (IDAI, 2002):

1. TB paru

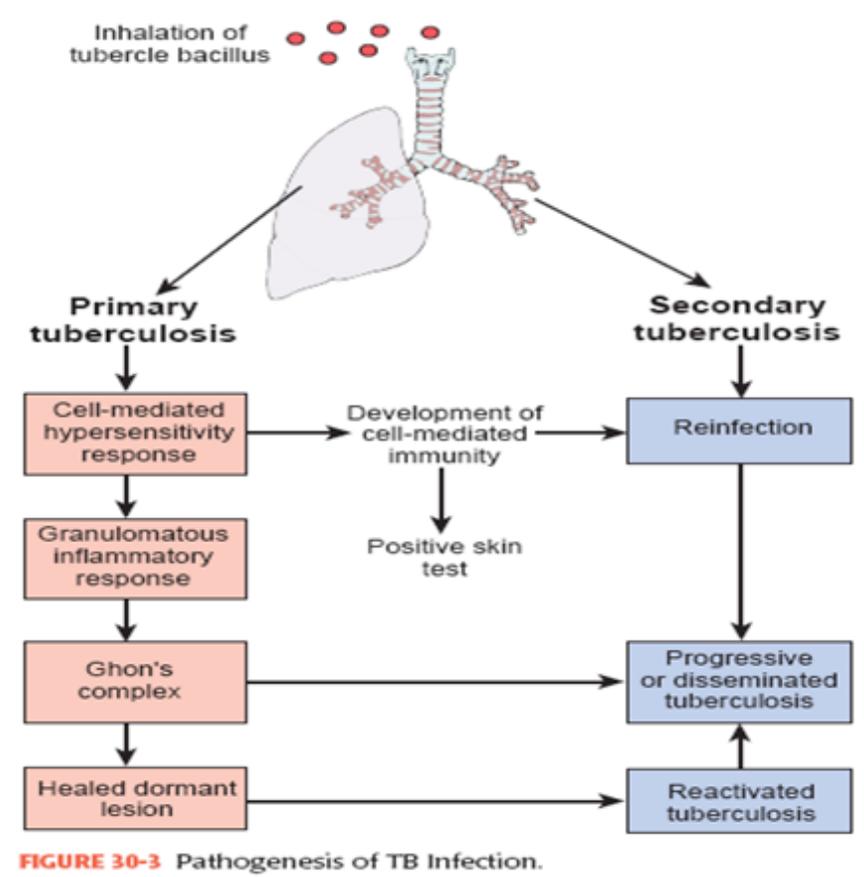
TB paru adalah TB yang menyerang jaringan (parenkim) paru, tidak termasuk pleura (selaput paru) dan kelenjar pada hilus.

2. TB ekstra paru

TB yang menyerang organ tubuh lain selain paru, misalnya pleura, selaput otak, selaput jantung (pericardium), kelenjar limfe, tulang, persendian, kulit, usus, ginjal, saluran kencing, alat kelamin, dan lain-lain.

Berdasarkan riwayat terjadinya TB terdapat 2 macam (Nawas, 1990; Depkes RI, 2002):

1. TB primer, yaitu infeksi TB yang terjadi saat seseorang terpapar pertama kali dengan kuman TB.
2. TB Pasca Primer, yaitu TB yang terjadi setelah beberapa bulan atau tahun sesudah infeksi primer, misalnya karena daya tahan tubuh menurun akibat terinfeksi HIV atau status gizi buruk.



Gambar 1. patogenesis infeksi TB berdasarkan riwayat terjadinya

Infeksi Primer

Infeksi primer terjadi saat seseorang terpapar pertama kali dengan bakteri TB. Droplet yang terhirup sangat kecil ukurannya, sehingga dapat melewati sistem pertahanan mukosilier bronkus, dan terus berjalan sehingga sampai di alveolus dan menetap di sana. Infeksi dimulai saat bakteri TB berhasil berkembang biak dengan cara pembelahan diri di paru, yang mengakibatkan peradangan di dalam paru. Saluran limfe akan membawa

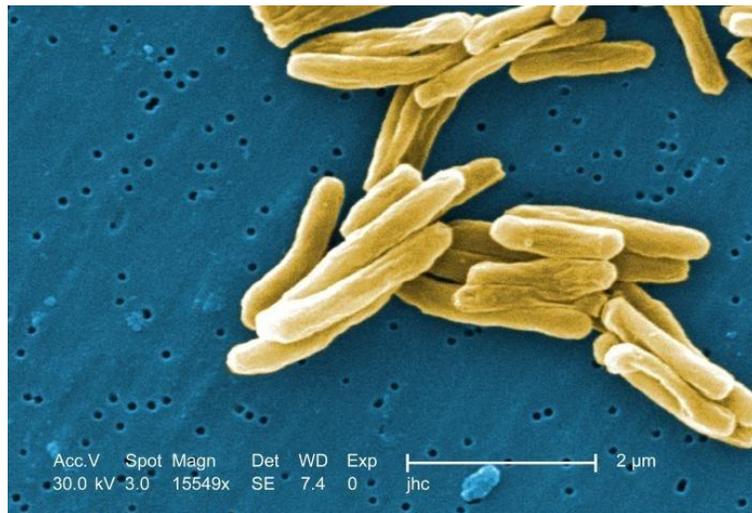
bakteri TB ke kelenjar limfe sekitar hilus paru, dan ini disebut sebagai kompleks primer. Waktu antara terjadinya infeksi sampai pembentukan kompleks primer adalah sekitar 4-6 minggu. Adanya infeksi dapat dibuktikan dengan terjadinya perubahan reaksi tuberkulin dari negatif menjadi positif (Kaswandani N. dkk., 2010)

Kelanjutan setelah terjadinya infeksi primer tergantung dari banyaknya bakteri yang masuk dan besarnya respon daya tahan tubuh (imunitas seluler). Pada umumnya reaksi daya tahan tubuh tersebut dapat menghentikan perkembangan bakteri TB. Meskipun demikian, ada beberapa bakteri akan menetap sebagai bakteri persisten atau dorman. Kadang-kadang daya tahan tubuh tidak mampu menghentikan perkembangan bakteri, akibatnya dalam beberapa bulan yang bersangkutan akan menjadi penderita TB. Masa inkubasi adalah waktu yang diperlukan sejak mulai terinfeksi sampai menjadi sakit, diperkirakan sekitar 6 bulan (Depkes RI, 2002).

TB Pasca Primer (*Post Primary TB*)

TB pasca primer biasanya terjadi beberapa bulan atau tahun sesudah infeksi primer, misalnya karena daya tahan tubuh menurun akibat terinfeksi HIV atau status gizi yang buruk. Ciri khas dari TB pasca primer adalah kerusakan paru yang luas dengan terjadinya kavitas atau efusi pleura (Depkes RI, 2002; Nawas, 1990).

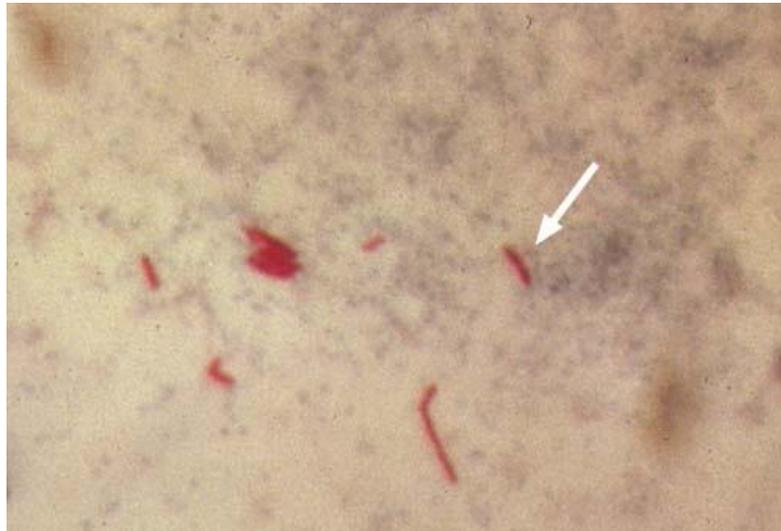
TB merupakan penyakit infeksi bakteri menahun yang ditandai dengan pembentukan granuloma pada jaringan yang terinfeksi. *Mycobacterium* merupakan kuman aerob yang dapat hidup terutama di paru/berbagai organ tubuh lainnya yang bertekanan parsial tinggi. Penyakit tuberkulosis ini biasanya menyerang paru tetapi dapat menyebar ke hampir seluruh bagian tubuh termasuk meninges, ginjal, tulang, nodus limfe. Infeksi awal biasanya terjadi 2 – 10 minggu setelah pemajanan individu kemudian dapat mengalami penyakit aktif karena gangguan atau ketidakefektifan respon imun (suparjo,2010).



Gambar 2. Sel *Mycobacterium tuberculosis* melalui micrograph scanning electrons Mag 15549X CDC (Todar, 2005).

Mycobacterium tuberculosis berbentuk batang lurus atau agak bengkok dengan ukuran 0,2- 0,4 x 1-4 um. Pewarnaan Ziehl-Neelsen

dipergunakan untuk identifikasi bakteri tahan asam. Kuman ini tumbuh lambat, koloni tampak setelah lebih kurang 2 minggu bahkan kadang-kadang setelah 6-8 minggu. Suhu optimum 37°C, tidak tumbuh pada suhu 25°C atau lebih dari 40°C. Medium padat yang biasa dipergunakan adalah Lowenstein-Jensen. PH optimum 6,4-7,0 (CDC, 2010).



Gambar 3. Morfologi *Mycobacterium tuberculosis* setelah di warnai dengan metode ZN (Sumber CDC).

Kuman ini tidak menghasilkan endotoksin maupun eksotoksin, sulit sekali diwarnai karena adanya zat lilin pada dinding sel, tetapi sekali terwarnai maka ia akan menahan zat warna dengan baik sekali dan tidak dapat dilunturkan walaupun dengan asam dan alkohol, alkalis dan dehidrasi; oleh karena itu *Mycobacterium tuberculosis* disebut sebagai basil tahan asam

(BTA). *Mycobacterium tuberculosis* ini dapat diwarnai dengan menggunakan pewarna yang melarutkan lilin sambil dilakukan pemanasan (Handayani S., 2002).

Bakteri ini akan tumbuh optimal pada suhu sekitar 37°C dengan tingkat pH optimal pada 6,4 sampai 7,0. Untuk membelah dari satu sampai dua (*generation time*) bakteri membutuhkan waktu 14-20 jam. Dinding sel *Mycobacterium tuberculosis* terdiri dari lemak dan protein. Lemak merupakan komponen lebih dari 30% berat dinding bakteri dan terdiri dari asam stearat, asam mikolik, mycosides, sulfolipid serta *cord factor*, sementara komponen protein utamanya adalah tuberkuloprotein (tuberkulin) (Israr Y.K, 2009).

Asam mikolat merupakan asam lemak berantai panjang (C60-C90) yang dihubungkan dengan arabinogalaktan oleh ikatan glikolipid dan dengan peptidoglikan oleh jembatan fosfodiester. Unsur lain yang terdapat pada dinding sel bakteri tersebut adalah polisakarida seperti arabinogalaktan dan arabinomanan. Komponen antigen ditemukan di dinding sel dan sitoplasma yaitu komponen lipid, polisakarida dan protein. Karakteristik antigen *Mycobacterium tuberculosis* dapat diidentifikasi menggunakan antibody monoklonal. Saat ini telah dikenal purified antigens dengan berat molekul 14 kDa, 19 kDa, 38 kDa, 65 kDa yang memberikan sensitivity dan spesifisiti yang bervariasi dalam mendiagnosa TB. Ada juga yang menggolongkan antigen *Mycobacterium tuberculosis* dalam kelompok

antigen yang disekresi dan yang tidak disekresi (somatic).Antigen yang disekresi hanya dihasilkan oleh basil yang hidup contohnya antigen 30.000a, protein MTP (PDPI, 2002).

Mycobacterium tuberculosis tidak tahan panas, akan mati pada 6°C selama 15-20 menit. Biakan dapat mati jika terkena sinar matahari langsung selama 2 jam. Dalam dahak dapat bertahan 20-30 jam. Basil yang berada dalam percikan bahan dapat bertahan hidup 8-10 hari. Biakan basil ini dalam suhu kamar dapat hidup 6-8 bulan dan dapat disimpan dalam lemari dengan suhu 20°C selama 2 tahun. *Mycobacterium* merupakan bakteri tahan terhadap berbagai khemikalia dan disinfektan antara lain phenol 5%, asam sulfat 15%, asam sitrat 3% dan NaOH 4%. Basil ini dihancurkan oleh jodium tinctur dalam 5 menit, dengan alkohol 80 % akan hancur dalam 2-10 menit serta oleh fenol 5% dalam waktu 24 jam (Hiswani,2004; Girsang, 1999).

Genom *Mycobacterium tuberculosis* mempunyai ukuran 4,4 Mb (mega base) dengan kandungan guanine (G) dan Sitosin (C) terbanyak. Dari hasil pemetaan gen, telah diketahui lebih dari 165 gen dan penanda genetic yang dibagi dalam 3 kelompok. Kelompok I, gen yang merupakan sekuen DNA mikobakteria yang selalu ada (conserved) sebagai DNA target, kelompok II merupakan sekuen DNA yang menyandi antigen protein, sedangkan kelompok III adalah sekuen DNA ulangan seperti elemen sisipan (PDPI, 2002).

b. Patogenesis TB

Cara penularan TB paru dapat terjadi secara langsung melalui percikan dahak yang mengandung kuman TB, terisap oleh orang sehat melalui jalan napas dan kemudian berkembang biak di paru. Dapat juga terjadi secara tidak langsung bila dahak yang dibatukkan penderita ke lantai atau tanah kemudian mengering dan menyatu dengan debu, lalu beterbangan di udara yang bila terisap orang sehat akan dapat menjadi sakit. Berdasarkan cara-cara penularan ini TB paru juga dimasukkan dalam golongan *airbone disease*(Nawas,1990).

Inhalasi droplet nuklei yang berukuran 1-5 mikron yang dapat melewati atau menembus sistem mukosilier saluran nafas sehingga dapat mencapai dan bersarang di bronkiolus dan alveolus. Karena dalam tubuh penjamu belum ada kekebalan awal, hal ini memungkinkan basil TB tersebut berkembang biak dan menyebar melalui saluran limfe (Crofton *et al*, 1992).

Paru merupakan *port d'entrée* lebih dari 98% kasus infeksi TB. Karena ukurannya yang sangat kecil, kuman TB dalam percik renik (*droplet nuclei*) yang terhirup, dapat mencapai alveolus. Masuknya kuman TB ini akan segera diatasi oleh mekanisme imunologis non spesifik. Makrofag alveolus akan menfagosit kuman TB dan biasanya sanggup menghancurkan sebagian besar kuman TB. Akan tetapi, pada sebagian kecil kasus, makrofag tidak mampu menghancurkan kuman TB dan kuman akan bereplikasi dalam makrofag. Kuman TB dalam makrofag yang terus berkembang biak, akhirnya

akan membentuk koloni di tempat tersebut. Lokasi pertama koloni kuman TB di jaringan paru disebut fokus primer Gohn (IDAI, 2002; Werdhani FKUI; Rahman, 2010).

Sarang primer ini mungkin timbul dibagian manapun dalam paru. Dari fokus primer, kuman TB menyebar melalui saluran limfe menuju kelenjar limfe regional, yaitu kelenjar limfe yang mempunyai saluran limfe ke lokasi focus primer. Penyebaran ini menyebabkan terjadinya inflamasi di saluran limfe (limfangitis) dan di kelenjar limfe (limfadenitis) yang terkena. Jika fokus primer terletak di lobus paru bawah atau tengah, kelenjar limfe yang akan terlibat adalah kelenjar limfe parahilus, sedangkan jika fokus primer terletak di apeks paru, yang akan terlibat adalah kelenjar paratrakeal. Kompleks primer merupakan gabungan antara fokus primer, kelenjar limfe regional yang membesar (limfadenitis) dan saluran limfe yang meradang (limfangitis) (Werdhani, FKUI; PDPI, 2002).

Waktu yang diperlukan sejak masuknya kuman TB hingga terbentuknya kompleks primer secara lengkap disebut sebagai masa inkubasi TB. Hal ini berbeda dengan pengertian masa inkubasi pada proses infeksi lain, yaitu waktu yang diperlukan sejak masuknya kuman hingga timbulnya gejala penyakit. Masa inkubasi TB biasanya berlangsung dalam waktu 4-8 minggu dengan rentang waktu antara 2-12 minggu. Dalam masa inkubasi tersebut, kuman tumbuh hingga mencapai jumlah 10^3 - 10^4 , yaitu jumlah yang

cukup untuk merangsang respons imunitas seluler (Werdhani,FKUI; IDAI 2002).

TB primer terjadi pada individu yang terpapar pertama kali dengan kuman TB, sedangkan TB paru kronik (reaktivasi atau pasca primer) adalah hasil reaktivasi infeksi TB pada suatu fokus dorman yang terjadi beberapa tahun lalu. Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap reaktivasi belum dipahami secara keseluruhan. Organ tubuh yang paling banyak diserang TB adalah paru. Beberapa penelitian menunjukkan adanya kenaikan limfosit alveolar, netrofil pada sel bronkoalveolar dan HLA-DR pada pasien TB paru (Handayani, 2008).

Selama berminggu-minggu awal proses infeksi, terjadi pertumbuhan logaritmik kuman TB sehingga jaringan tubuh yang awalnya belum tersensitisasi terhadap tuberkulin, mengalami perkembangan sensitivitas. Pada saat terbentuknya kompleks primer inilah, infeksi TB primer dinyatakan telah terjadi. Hal tersebut ditandai oleh terbentuknya hipersensitivitas terhadap tuberkuloprotein, yaitu timbulnya respons positif terhadap uji tuberkulin. Selama masa inkubasi, uji tuberkulin masih negatif.

Setelah kompleks primer terbentuk, imunitas seluler tubuh terhadap TB telah terbentuk. Pada sebagian besar individu dengan system imun yang berfungsi baik, begitu system imun seluler berkembang, proliferasi kuman TB terhenti. Namun, sejumlah kecil kuman TB dapat tetap hidup dalam granuloma. Bila imunitas seluler telah terbentuk, kuman TB baru yang masuk

ke dalam alveoli akan segera dimusnahkan. Setelah imunitas seluler terbentuk, focus primer di jaringan paru biasanya mengalami resolusi secara sempurna membentuk fibrosis atau kalsifikasi setelah mengalami nekrosis perkijuan dan enkapsulasi. Kelenjar limfe regional juga akan mengalami fibrosis dan enkapsulasi, tetapi penyembuhannya biasanya tidak sesempurna focus primer di jaringan paru. Kuman TB dapat tetap hidup dan menetap selama bertahun-tahun dalam kelenjar ini. Kompleks primer dapat juga mengalami komplikasi. Komplikasi yang terjadi dapat disebabkan oleh focus paru atau di kelenjar limfe regional. Fokus primer di paru dapat membesar dan menyebabkan pneumonitis atau pleuritis fokal. Jika terjadi nekrosis perkijuan yang berat, bagian tengah lesi akan mencair dan keluar melalui bronkus sehingga meninggalkan rongga di jaringan paru (kavitas). Kelenjar limfe hilus atau paratrakea yang mulanya berukuran normal saat awal infeksi, akan membesar karena reaksi inflamasi yang berlanjut. Bronkus dapat terganggu. Obstruksi parsial pada bronkus akibat tekanan eksternal dapat menyebabkan ateletaksis. Kelenjar yang mengalami inflamasi dan nekrosis perkijuan dapat merusak dan menimbulkan erosi dinding bronkus, sehingga menyebabkan TB endobronkial atau membentuk fistula. Massa kiju dapat menimbulkan obstruksi komplisit pada bronkus sehingga menyebabkan gabungan pneumonitis dan ateletaksis, yang sering disebut sebagai lesi segmental kolaps-konsolidasi. Selama masa inkubasi, sebelum terbentuknya

imunitas seluler, dapat terjadi penyebaran limfogen dan hematogen (IDAI, 2008; Rahman, 2010; PDPI, 2002)).

Pada penyebaran limfogen, kuman menyebar ke kelenjar limfe regional membentuk kompleks primer. Sedangkan pada penyebaran hematogen, kuman TB masuk ke dalam sirkulasi darah dan menyebar ke seluruh tubuh. Adanya penyebaran hematogen inilah yang menyebabkan TB disebut sebagai penyakit sistemik. Penyebaran hematogen yang paling sering terjadi adalah dalam bentuk penyebaran hematogenik tersamar (*occult hematogenic spread*). Melalui cara ini, kuman TB menyebar secara sporadic dan sedikit demi sedikit sehingga tidak menimbulkan gejala klinis. Kuman TB kemudian akan mencapai berbagai organ di seluruh tubuh. Organ yang biasanya dituju adalah organ yang mempunyai vaskularisasi baik, misalnya otak, tulang, ginjal, dan paru sendiri, terutama apeks paru atau lobus atas paru. Di berbagai lokasi tersebut, kuman TB akan bereplikasi dan membentuk koloni kuman sebelum terbentuk imunitas seluler yang akan membatasi pertumbuhannya (Rahman, 2010)

Pada anak, 5 tahun pertama setelah infeksi (terutama 1 tahun pertama), biasanya sering terjadi komplikasi. Ada 3 bentuk dasar TB paru pada anak, yaitu penyebaran limfohematogen, TB endobronkial, dan TB paru kronik. Sebanyak 0.5-3% penyebaran limfohematogen akan menjadi TB milier atau meningitis TB, hal ini biasanya terjadi 3-6 bulan setelah infeksi primer. TB endobronkial (lesi segmental yang timbul akibat pembesaran

kelenjar regional) dapat terjadi dalam waktu yang lebih lama (3-9 bulan). Terjadinya TB paru kronik sangat bervariasi, bergantung pada usia terjadinya infeksi primer. TB paru kronik biasanya terjadi akibat reaktivasi kuman di dalam lesi yang tidak mengalami resolusi sempurna. Reaktivasi ini jarang terjadi pada anak, tetapi sering pada remaja dan dewasa muda (Nawas, 1990).

Tuberkulosis ekstrapulmonal dapat terjadi pada 25-30% anak yang terinfeksi TB. TB tulang dan sendi terjadi pada 5-10% anak yang terinfeksi, dan paling banyak terjadi dalam 1 tahun tetapi dapat juga 2-3 tahun kemudian. TB ginjal biasanya terjadi 5-25 tahun setelah infeksi primer(Werdhani,FKUI).

c. Gejala TB

Gejala utama pasien TB paru adalah batuk berdahak selama 2-3 minggu atau lebih. Batuk dapat diikuti dengan gejala tambahan yaitu dahak bercampur darah, batuk, darah, sesak nafas, badan lemas, nafsu makan menurun, berat badan menurun, malaise, berkeringat malam hari tanpa kegiatan fisik, demam meriang lebih dari satu bulan. Gejala-gejala tersebut diatas dapat dijumpai pula pada penyakit paru selain TB, seperti bronkietasis, bronkitis kronis, asma, kanker paru, dan lain-lain(IDAI,2008).

Buku petunjuk penanggulangan TB yang dikeluarkan oleh Departemen Kesehatan menyebutkan bahwa gejala utama penyakit ini adalah batuk

berdahak lebih dari 3 minggu (Israr Y.K. dkk., 2009; Nawas 1990; PDPI, 2002).

1. Batuk

Batuk terjadi karena adanya iritasi pada bronkus. Batuk ini diperlukan untuk membuang dahak keluar. Karena terlibatnya bronkus pada setiap penyakit tidak sama, mungkin saja batuk baru ada setelah penyakit berkembang dalam jaringan paru yakni setelah berminggu-minggu atau berbulan-bulan peradangan bermula. Sifat batuk dimulai dari batuk kering (non-produktif) kemudian setelah timbul peradangan menjadi produktif (menghasilkan sputum).

2. Batuk darah

Batuk darah dapat terjadi bila ada pembuluh darah yang terkena lesi dan kemudian pecah. Batuk darah ini dapat hanya ringan saja, sedang ataupun berat tergantung dari berbagai faktor. Kebanyakan batuk darah pada TB terjadi pada kavitas, tetapi dapat juga terjadi pada ulkus dinding bronkus.

3. Demam

Biasanya subfebril menyerupai demam influenza. Tetapi kadang-kadang panas badan dapat mencapai 40-41°C. Serangan demam pertama dapat sembuh sebentar, tetapi kemudian dapat timbul kembali. Keadaan ini sangat dipengaruhi oleh daya tahan tubuh pasien dan berat ringannya infeksi kuman tuberkulosis yang masuk.

4. Nyeri dada

Nyeri dada timbul bila infiltrasi radang sudah sampai ke pleura sehingga menimbulkan pleuritis. Terjadi gesekan kedua pleura sewaktu pasien menarik/melepaskan napasnya.

5. Sesak napas

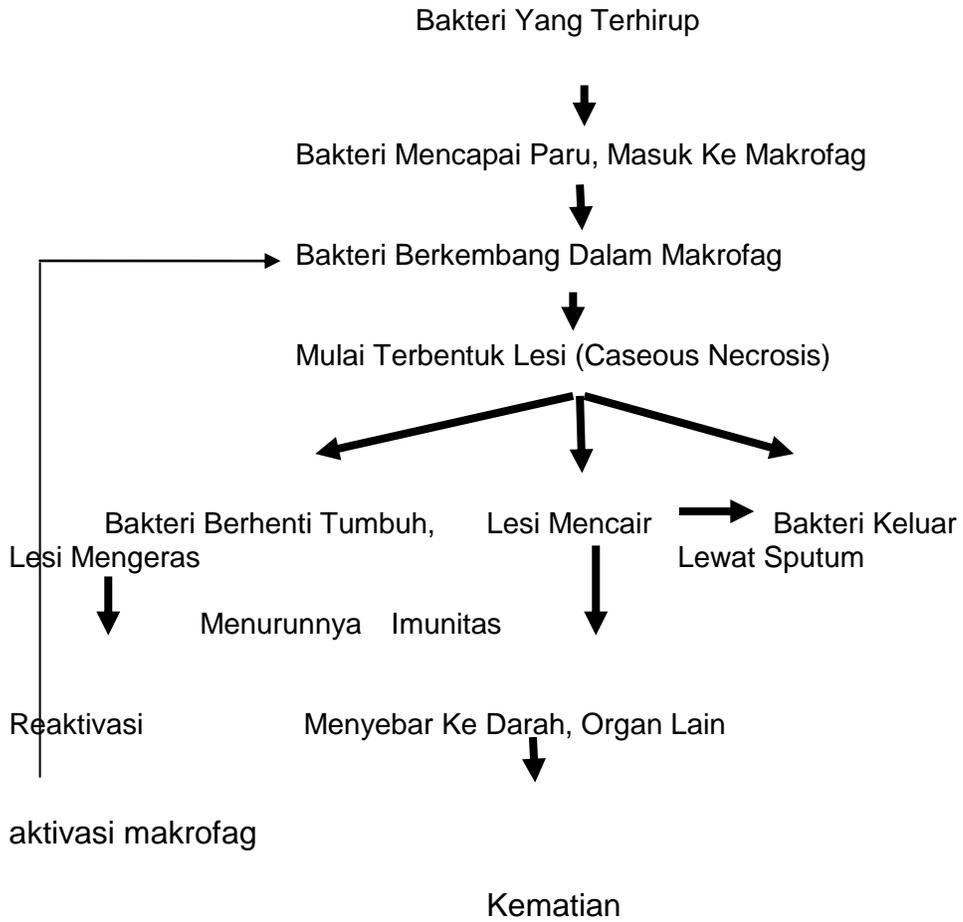
Pada penyakit ringan belum dirasakan sesak napas. Sesak napas akan ditemukan pada penyakit yang sudah lanjut yang infiltrasinya sudah meliputi setengah bagian paru-paru.

6. Malaise

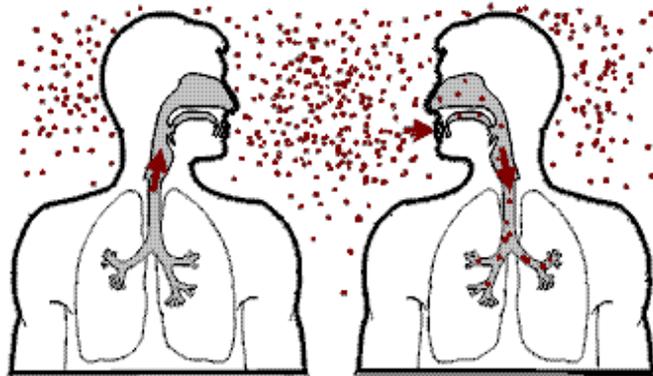
Gejala malaisesering ditemukan berupa anoreksia, badan makin kurus, sakit kepala, meriang, nyeri otot, keringat malam, dan lain-lain. Gejala malaiseini makin lama makin berat dan terjadi secara tidak teratur.

Pada TB ekstraparu, gejalanya tergantung dari organ yang terlibat, misalnya pada limfadenitis TB akan terjadi pembesaran yang lambat dan tidak nyeri dari kelenjar getah bening. Pada meningitis TB akan terlihat gejala meningitis, sementara pada pleuritis TB terdapat gejala sesak nafas dan kadang nyeri dada pada sisi yang rongga pleulranya terdapat cairan (PDPI, 2002).

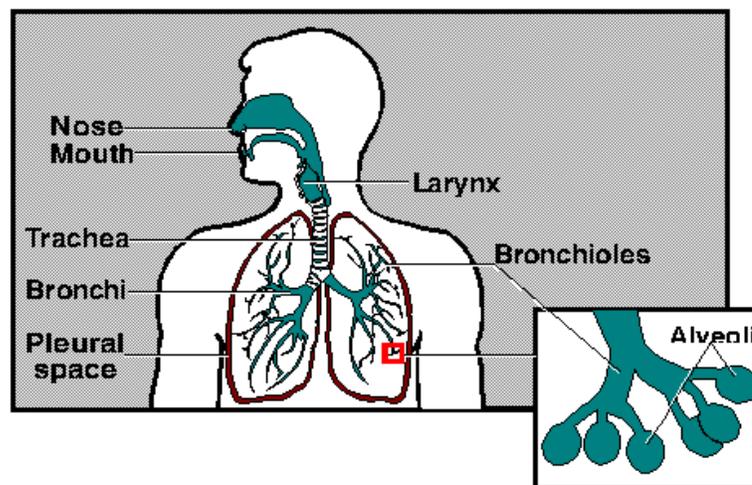
Slayer A.A dalam Handayani menggambarkan patogenesis tuberkulosis dimulai dari masuknya kuman sampai timbulnya berbagai gejala klinis yang digambarkan sebagai berikut:



Gambar 4. Gambaran Pathogenesis TB



Gambar 5. Penyebaran droplet dari satu individu ke individu lainnya. Setelah nukleus droplet yang terhirup, bakteri ini akan diambil oleh makrofaga alveolar. Namun, makrofaga tidak akan diaktifkan dan tidak dapat menghancurkan organisme intraselular



Gambar 6. TB dimulai ketika nukleus droplet mencapai alveoli.

(Todar, 2005)

d. TB Pada Anak

Diperkirakan sepertiga populasi dunia terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*, dan dari populasi yang terinfeksi tersebut, setiap tahun lebih dari 8 juta orang menjadi sakit, serta 2 juta orang meninggal karena TB. Dari seluruh kasus, 11% dialami oleh anak-anak dibawah 15 tahun. Menurut perhitungan global lainnya, setiap tahun 1,5 juta kasus baru TB dan 130.000 kematian akibat TB terjadi pada populasi anak, dengan kisaran persentase yang sangat luas antar berbagai Negara di dunia (antara 3% - 25%). Namun seringkali TB pada populasi anak tidak ditempatkan sebagai prioritas utama oleh program TB nasional karena beberapa alasan, yaitu kesulitan diagnosis, jaranganya penularan dari TB anak, sumber daya yang terbatas, keyakinan yang salah mengenai BCG, kurangnya data mengenai pengobatan (Kabraet *al.*, 2004).

TB pada anak sering terjadi pada usia berapapun, namun usia paling umum adalah 1-4 tahun. Anak lebih sering mengalami TB luar paru-paru (extrapulmonary) dibanding TB paru dengan perbandingan 3:1. TB luar paru dan TB yang berat terutama ditemukan pada usia <3 tahun. Angka kejadian (prevalensi) TB pada usia 5-12 tahun cukup rendah, kemudian meningkat selama masa remaja dimana TB paru-paru menyerupai kasus pada pasien dewasa (sering disertai lubang / kavitas pada paru-paru) (WHO, 2003; Itqiyah, 2010).

Selain oleh *Mycobacterium tuberculosis* dari orang dewasa atau anak lain, anak dapat terinfeksi *Mycobacterium bovis* dari susu sapi yang tidak di pasteurisasi, infeksi ini umumnya bermanifestasi sebagai TB kelenjar getah bening atau TB usus (WHO, 2003; Itqiyah 2010).

Anak biasanya tertular dari sumber infeksi yang umumnya TB dewasa. Factor lingkungan, khususnya sirkulasi yang buruk menunjang transmis. Akbar dalam Laila, meneliti bayi dan anak yang kontak dengan penderita TB dewasa dengan BTA(+) dan didapatkan bahwa bayi dan anak yang kontak dirumah mempunyai resiko tinggi untuk terjadinya infeksi TB, khususnya pada anak yang tidur dalam satu kamar (Raharjo NN.,1994; Laila, 2004).

Sebagian besar anak yang terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis* tidak menjadi sakit selama masa anak-anak. Satu-satunya bukti infeksi mungkin hanyalah tes tuberkulin kulit yang positif. Kemungkinan paling besar anak menjadi sakit dari infeksi *Mycobacterium tuberculosis* adalah segera setelah infeksi dan menurun seiring waktu. Jika anak yang terinfeksi menjadi sakit, sebagian besar akan menunjukkan gejala dalam jangka waktu satu tahun setelah infeksi, namun untuk bayi jangka waktu tersebut mungkin hanya 6-8 minggu (WHO, 2003 ; anonim, 2010).

B. Diagnosis

a. Diagnosis TB Anak

Diagnostik pasti TB ditegakkan dengan ditemukannya bakteri *Mycobacterium tuberculosis* pada sputum atau bilasan lambung, cairan serebrospinalis, cairan pleura, pada biopsy jaringan, bilasan bronkus, kurasan bronkoalveolar, urine, faeces atau pada bio[si jaringan (BJH) (PDPI, 2002).

Diagnosis TB pada anak sulit sehingga sering terjadi misdiagnosis baik *overdiagnosis* maupun *underdiagnosis*(Sulaifi,2010 ; IDAI,2008; Rahman, 2010).

Kesulitan menegakkan diagnosis pasti disebabkan oleh 2 hal, yaitu sedikitnya jumlah kuman (Paucibacillary) dan sulitnya pengambilan sampel (sputum). Jumlah sputum pada anak lebih sedikit daripada dewasa karena lokasi kerusakan jaringan TB paru primer terletak di kelenjar limfe hilus dan parenkim paru bagian perifer. Selain itu, tingkat kerusakan parenkim paru tidak seberat pada dewasa. Kuman BTA baru dapat dilihat dengan mikroskop bila jumlahnya paling sedikit 5.000 kuman dalam 1 ml dahak (IDAI, 2008).

Kesulitan kedua, pengambilan specimensputum sulit dilakukan. Pada anak, walaupun batuknya berdahak, biasanya dahak akan ditelan sehingga diperlukan bilasan lambung yang diambil melalui nasogastrik tube (NGT) dan harus dilakukan oleh petugas berpengalaman. Cara ini tidak menyenangkan

bagi pasien. Dahak yang representative untuk dilakukan pemeriksaan mikroskopik adalah dahak yang kental dan purulen, berwarna hijau kekuningan dengan volume 3-5 ml.

Marais BJ *et al*, dalam Kuswandani menyatakan bahwa Penegakan diagnosis TB pada anak jauh lebih sulit dibandingkan pada dewasa. Gejala-gejala TB pada anak tidak Khas, mirip dengan gejala penyakit infeksi atau penyakit kronik lainnya. Pemeriksaan penunjang untuk membantu penegakan diagnosis pun memiliki permasalahan yang cukup kompleks. Jika pada dewasa pemeriksaan sputum dapat memberikan informasi yang akurat, namun pada anak-anak sulit dilakukan. Meskipun bias diganti dengan pemeriksaan bilasan lambung, namun presentasi hasil positif sangat kecil.

Salah satu penunjang yang digunakan untuk terjadinya infeksi TB pada anak adalah pemeriksaan uji tuberkulin. Uji tuberkulin mempunyai sensitivitas dan spesifitas yang cukup tinggi untuk menentukan ada tidaknya infeksi TB, khususnya pada anak. namun demikian uji tuberkulin mempunyai kekurangan , diantaranya adalah tidak dapat membedakan antara infeksi laten TB dan penyakit TB aktif serta adanya hasil negative palsu karena alergi serta positif palsu karena reaksi silang dengan *Bacillus calmette Guerin* (BCG) dan infeksi *mycobacterium* lainnya (Kuswandani N, dkk., 2010)

Diagnosis TB anak bergantung pada penemuan klinis dan radiologis, yang seringkali tidak spesifik. Kadang-kadang TB anak ditemukan karena ditemukannya TB dewasa disekitarnya. Diagnosis TB anak ditentukan

berdasarkan gambaran klinis dan pemeriksaan penunjang seperti uji tuberculin, pemeriksaan laboratorium dan foto rontgen dada. Adanya riwayat kontak dengan pasien tuberkulosis dewasa BTA positif, uji tuberculin positif dan foto paru yang mengarah pada TB (sugestif tuberkulosis) merupakan bukti kuat yang menyatakan anak telah sakit TB (IDAI, 2008; Itqiyah, 2010).

b. Sistem Skoring

Mendiagnosis TB anak sulit dilakukan karena gejalanya tidak khas, disamping itu pengambilan dahak pada anak biasanya sulit, maka diagnosis TB anak perlu kriteria lain dengan menggunakan sistem skor. Unit Kerja Koordinasi Respirologi PP IDAI telah membuat Pedoman Nasional Tuberkulosis Anak (PNTA) dengan menggunakan sistem skor (*scoring system*), yaitu pembobotan terhadap gejala atau tanda klinis yang dijumpai. Penilaian atau scoring tersebut dapat dilihat dalam tabel 1. Pedoman tersebut secara resmi digunakan oleh program nasional penanggulangan TB untuk diagnosis TB anak.

Pada tabel 1, dapat dilihat bahwa pembobotan tertinggi terdapat pada uji tuberculin dan adanya kontak TB dengan BTA positif. Uji tuberkulin ini mempunyai sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi sehingga dapat digunakan sebagai uji tapis dan menunjang diagnosis. Demikian pula adanya

kontak dengan penderita dewasa dengan BTA positif. Adanya kontak dengan BTA positif dapat menjadi sumber penularan yang berbahaya, karena berdasarkan penelitian akan menularkan sekitar 65% orang di sekitarnya. Penurunan berat badan merupakan gejala umum yang sering dijumpai pada TB anak. Umumnya, penderita TB anak mempunyai berat badan dibawah garis merah atau bahkan gizi buruk, sehingga kriteria penurunan berat badan menjadi penting. Penurunan berat badan yang dimaksud adalah apabila terjadi penurunan dalam dua bulan berturut-turut (IDAI, 2008).

Tabel 1. Sistem Skoring (Scoring system) gejala dan pemeriksaan penunjang TB

PARAMETER	0	1	2	3	JUM LAH
Kontak TB	Tidak Jelas		Laporan Keluarga, BTA negative atau tidak tahu, BTA tidak Jelas	BTA Positif	
Uji Tuberkulin	Negative			Positif (≥ 10 mm, atau ≥ 5 mm pada keadaan immunosupresi)	
Berat Badan/Keadaan Gizi		Bawah Garis merah (KMS) atau BB/U $< 80\%$	Klinis gizi buruk (BB/U $< 60\%$)		
Demam Tanpa Sebab Jelas		≥ 2 minggu			
Batuk		≥ 3 minggu			
Pembesaran		≥ 1 cm,			

Kelenjar Limfe koli, aksilla, inguinal		jumlah >1, tidak nyeri			
Pembengkakan tulang/sendi panggul, lutut, falang		Ada Pembengkakan			
Foto rontgen Thoraks	Normal/tidak jelas	Kesan TB			
Jumlah					

Sumber: IDAI, 2008

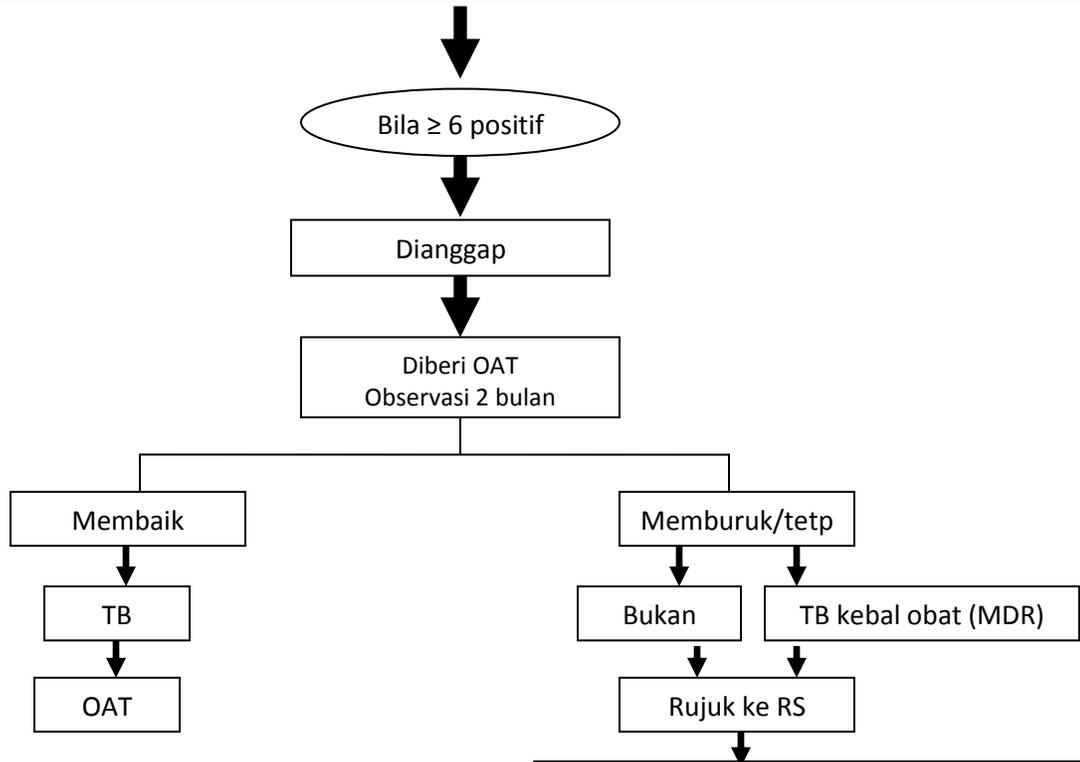
Setelah dokter melakukan anamnesis, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan penunjang, maka dilakukan pembobotan dengan sistem skor. Pasien dengan jumlah skor yang lebih atau sama dengan 6 (≥ 6), harus ditatalaksana sebagai pasien TB dan mendapat OAT (obat anti tuberkulosis). Bila skor kurang dari 6 tetapi secara klinis kecurigaan kearah TB kuat maka perlu dilakukan pemeriksaan diagnostik lainnya sesuai indikasi, seperti bilasan lambung, patologi anatomi, punksi lumbal, punksi pleura, foto tulang dan sendi, funduskopi, CT-Scan, dan lain lainnya (Sulaifi, 2010, dan IDAI, 2008).

Diagnosis TB Anak yang paling tepat adalah ditemukannya basil tuberkulosis dari bahan yang diambil dari pasien misalnya sputum, bilasan lambung, biopsi dan lain-lain. Pada anak hal ini sulit dan jarang didapat, sehingga sebagian besar diagnosis TB akan didasarkan gambaran klinis, uji

tuberkulin dan gambaran radiologis seperti yang terangkum dalam alur deteksi dini dan rujukan TB anak dibawah ini:

Gambar 7. Alur Deteksi Dini Dan Rujukan TB Anak

- Hal – hal yang mencurigakan TB :**
1. Riwayat kontak erat dengan pasien TB sputum BTA (+)
 2. Reaksi cepat BCG, yaitu timbul kemerahan di lokasi suntikan dalam 3-7 hari setelah BCG
 3. Berat badan turun tanpa sebab jelas, atau berat badan kurang yang tidak naik dalam 1 bulan meskipun sudah dengan penanganan gizi (failure to thrive)
 4. Demam lama atau berulang, tanpa sebab yang jelas
 5. Batuk lama, lebih dari 3 minggu
 6. Pembesaran kelenjar limfe superfisial yang spesifik
 7. Skrofuloderma
 8. Konjungtivitis fliktenularis
 9. Uji tuberkulin yang positif (≥ 10 mm)
 10. Gambaran foto rontgen segestif TB



Perhatian Bila terdapat tanda-tanda bahaya seperti :

- Kejang
- Kesadaran menurun
- Kaku kuduk

Atau tanda lain seperti :

- Benjolan di punggung
- Pincang, fenomena papan catur

Rujuk ke RS

Evaluasi ulang di Rumah Sakit Rujukan :

- Gejala klinis
- Uji Tuberkulin
- Foto Rontgen
- Pemeriksaan mikrobiologi dan serologis
- Pemeriksaan patologi anatomi

Prosedur fiagnosis dan tata laksana yang sesuai dengan prosedur di RS yang bersangkutan.

C. Obat Anti TB

Obat yang digunakan untuk TB digolongkan atas dua kelompok yaitu:

1. Obat primer : INH (isoniazid), Rifampisin, Etambutol, Streptomisin, Pirazinamid. Memerlihatkan efektifitas yang tinggi dengan toksisitas yang masih dapat ditolerir, sebagian besar penderita dapat disembuhkan dengan obat-obat ini.
2. Obat sekunder : Exionamid, Paraaminosalisilat, Sikloserin, Amikasin, Kapreomisin dan Kanamisin.

Meskipun demikian, pengobatan TB paru-paru hampir selalu menggunakan tiga obat yaitu INH, rifampisin dan pirazinamid pada bulan pertama selama tidak ada resistensi terhadap satu atau lebih obat tuberkulosis primer ini.

a. Isoniazid

Isoniazid atau isonikotinil hidrazid yang disingkat dengan INH. Isoniazid secara *in vitro* bersifat *tuberkulostatik* (menahan perkembangan bakteri) dan *tuberkulosid* (membunuh bakteri) dengan konsentrasi hambatan minimum (KHM) sekitar 0,025 – 0,05 µg/ml. Pembelahan kuman masih berlangsung 2-3x sebelum dihambat sama sekali. Efek bakterisidanya hanya terlihat pada kuman yang sedang tumbuh aktif (wordpress.com, 2012).

Mekanisme kerja isoniazid memiliki efek pada lemak, biosintesis asam nukleat, dan glikolisis. Efek utamanya ialah menghambat biosintesis asam mikolat (*mycolic acid*) yang merupakan unsur penting dinding sel mikobakterium. Isoniazid menghilangkan sifat tahan asam dan menurunkan jumlah lemak yang terekstraksi oleh metanol dari mikobakterium.

Isoniazid mudah diabsorpsi pada pemberian oral maupun parenteral. Kadar puncak diperoleh dalam waktu 1–2 jam setelah pemberian oral. Di hati, isoniazid mengalami asetilasi dan pada manusia kecepatan metabolisme ini dipengaruhi oleh faktor genetik yang secara bermakna mempengaruhi kadar obat dalam plasma. Namun, perbedaan ini tidak berpengaruh pada efektivitas dan atau toksisitas isoniazid bila obat ini diberikan setiap hari (IDAI, 2008; Sulaifi, 2010).

INH adalah obat yang aktif terhadap *Mycobacterium tuberculosis* yang membelah dan tidak aktif terhadap *Mycobacterium tuberculosis* dalam fase stasioner. INH juga tidak bekerja dalam suasana anaerob, INH adalah “prodrug “ yang masuk ke dalam kuman dengan cara pasif. Prodrug selanjutnya akan diubah oleh katalase G *Mycobacterium tuberculosis* menjadi bentuk aktif. Aktifasi menghasilkan berbagai oksigendan senyawa reaktif yang menyerang target di dalam kuman, yaitu sintesa asam mikolat, metabolisme NAD dan mungkin juga merusak DNA. Akibatnya kuman mudah

lisis. INH saat ini juga direkomendasikan untuk mencegah TB pada kelompok pasien *human immunodeficiency virus* (HIV) dan anak-anak yang tinggal bersama penderita TB paru. Bukti-bukti genetik menunjukkan bahwa mutasi gen-gen *katG*, *inhA*, *ahpC*, *oxyR* dan *kasA* merupakan penyebab kekebalan terhadap INH, dengan persentase mutasi pada gen *katG* sebesar 60-70%, dan selebihnya pada gen lain. Modifikasi *KatG*, baik sebagian atau delesi total, dan mutasi titik atau insersi menyebabkan penurunan aktivitas katalase dan tingginya resistensi terhadap INH. Katalase ini esensial untuk mengaktifkan INH menjadi derivat hidrazin yang aktif (Gilleiespie dalam Syaifudin, 2006; WHO, 2008).

b. Mekanisme Tingkat Molekul Resistensi Terhadap Obat Antituberculosis Isoniazid (INH)

INH merupakan antituberkulosis yang paling efektif baik untuk pengobatan maupun untuk pencegahan penyakit tuberkulosis karena *Mycobacterium tuberculosis* sangat sensitif terhadap INH. Galur resisten INH seringkali muncul dengan frekuensi kurang lebih 90%. Resistensi terhadap INH disebabkan oleh mutasi pada salah satu dari gen *katG*, *inhA* atau *ahpC*.

Setelah masuk ke dalam sel, INH diubah menjadi bentuk aktifnya oleh enzim katalase-peroksidase (*KatG*) yang dikode oleh gen *katG*. Diduga, INH yang aktif berupa bentuk teroksidasinya. Enzim *katG* merupakan satu-

satunya enzim yang mengaktivasi INH, oleh karena itu hilangnya aktivitas KatG akibat mutasi pada gen *katG* mengakibatkan *Mycobacterium tuberculosis* resisten terhadap INH (Debbi S, 2004; Siu *et al* 2010).

Resistensi terhadap INH yang paling banyak terjadi adalah akibat mutasi pada gen *katG*. INH dalam bentuk aktif menghambat enzim enoil-ACP reduktase, *InhA* (dikode gen *inhA*), suatu enzim yang mengkatalisis tahap awal sintesis asam mikolat. Reaksi yang dikatalisis oleh *KatG* terhadap INH diduga menghasilkan spesi elektrofil yang dapat bereaksi dengan molekul sasaran dalam sel *Mycobacterium* seperti *InhA*. Penelitian dengan pendekatan struktur menunjukkan bahwa INHaktif bereaksi dengan NAD(H), suatu kofaktor yang terikat pada *InhA* kemudian membentuk ikatan kovalen INH-NAD. Kepekaan terhadap INH disebabkan karena penggabungan INH-NAD sehingga menghambat aktivitas enzimatik *InhA* (Siu *et al*, 2010; WHO, 2008)

Mutasi pada *inhA* juga menyebabkan *Mycobacterium* menjadi resisten terhadap antituberkulosis lain yang struktur kimianya mirip INH yaitu etionamid. Mutasi pada gen *inhA* belum banyak dilaporkan, namun telah ditemukan mutasi pada kodon 94 (Ser → Ala). Sekitar 16% isolat klinik yang resisten terhadap INH menunjukkan mutasi pada gen *ahpC* yang mengkode *AhpC*, suatu enzim alkil hidroperoksidase yang berfungsi sebagai komponen reduktase antioksidan. Jika gen *katG* termutasi maka ekspresi *ahpC* meningkat untuk mengatasi hilangnya fungsi *KatG*. Mutasi yang

bertanggungjawab terhadap peningkatan ekspresi gen *ahpC* adalah pada daerah berukuran 105 pasangan basa yang berlokasi di antara *oxyR-ahpC*, biasanya terjadi pada frekuensi rendah berupa transisi G-C menjadi A-T (Debbi, S. 2004).

D. Polymerase Chain Reaction

Reaksi berantai PCR adalah suatu metode enzimatik untuk melipatgandakan secara eksponensial suatu sekuens nukleotida tertentu dengan cara *in vitro* (Yuwono T. 2006).

a. Prinsip Dasar PCR

Secara prinsip, PCR merupakan proses yang diulang-ulang antara 20–30 kali siklus. Setiap siklus terdiri atas tiga tahap. Berikut adalah tiga tahap bekerjanya PCR dalam satu siklus (Wikipedia, 2012):

1. Tahap peleburan (*melting*) atau denaturasi.

Pada tahap ini (berlangsung pada suhu tinggi 94 - 96 °C) ikatan hidrogen DNA terputus (denaturasi) dan DNA menjadi berberkas tunggal. Biasanya pada tahap awal PCR tahap ini dilakukan agak lama (sampai 5 menit) untuk memastikan semua berkas DNA terpisah. Pemisahan ini menyebabkan DNA tidak stabil dan siap menjadi templat ("patokan") bagi primer. Durasi tahap ini 1–2 menit.

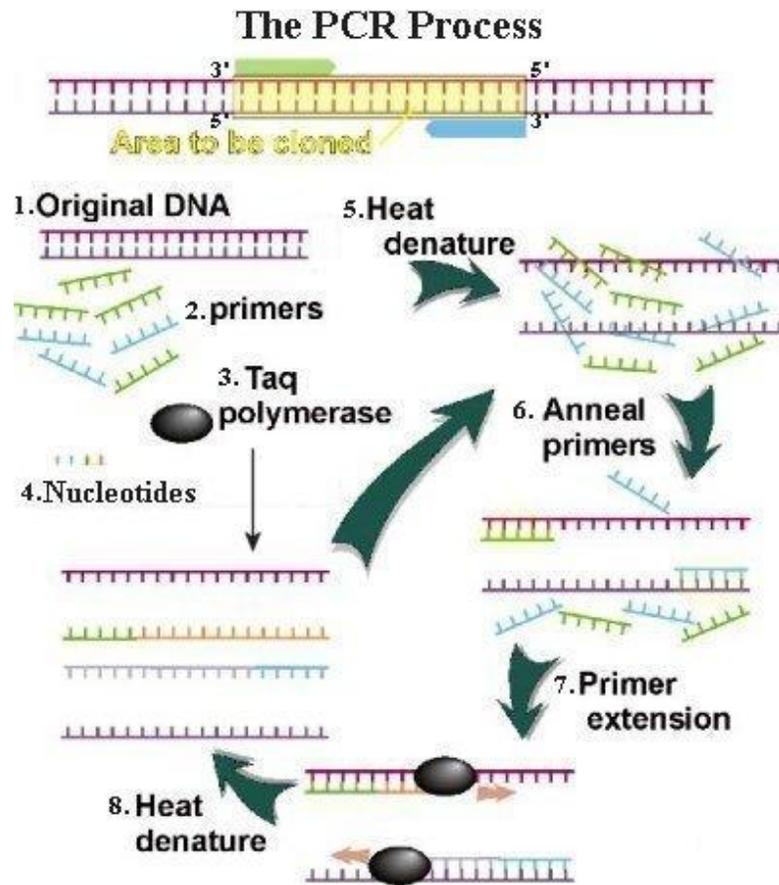
2. Tahap penempelan atau *annealing*.

Primer menempel pada bagian DNA templat yang komplementer urutan basanya. Ini dilakukan pada suhu antara 45–60 °C. Penempelan ini bersifat spesifik. Suhu yang tidak tepat menyebabkan tidak terjadinya penempelan atau primer menempel di sembarang tempat. Durasi tahap ini 1–2 menit.

3. Tahap pemanjangan atau *elongasi*.

Suhu untuk proses ini tergantung dari jenis DNA polimerase yang dipakai. Dengan Taq-polimerase, proses ini biasanya dilakukan pada suhu 76 °C. Durasi tahap ini biasanya 1 menit.

Setelah tahap 3 selesai, siklus diulang kembali mulai tahap 1. Akibat denaturasi dan renaturasi, beberapa berkas baru (berwarna hijau) menjadi templat bagi primer lain. Akhirnya terdapat berkas DNA yang panjangnya dibatasi oleh primer yang dipakai. Jumlah DNA yang dihasilkan berlimpah karena penambahan terjadi secara eksponensial



Gambar 8. Proses PCR (sumber: <http://universe-review.ca/R11-16-DNAsequencing.htm>)

b. MAS-PCR

MAS-PCR merupakan teknik biologi molekuler untuk amplifikasi beberapa target DNA dalam satu kali eksperimen. Terdiri dari beberapa set primer dalam campuran reaksi PCR tunggal untuk menghasilkan amplifikasi dari berbagai ukuran DNA yang spesifik pada sekuens DNA yang berbeda. Dengan menargetkan beberapa gen sekaligus, dapat dihasilkan beberapa

informasi dengan sekali running PCR. Suhu annealing untuk setiap primer harus di optimalkan agar dapat bekerja dengan baik dalam sekali reaksi

Reaksi MAS-PCR secara luas dapat dibagi dalam dua kategori (Primier biosioft, 2012):

1. Reaksi PCR templat tunggal (*Single template*)

Teknik ini menggunakan templat tunggal yang dapat menjadi DNA genombersama dengan beberapa pasang primer forward dan reverse untuk mengamplifikasi daerah/region tertentu pada templat.

1. Reaksi PCR dengan beberapa templat (*Multiple template*)

Teknik ini menggunakan beberapa templat dan beberapa set primer dalam tabung reaksi yang sama. Kehadiran beberapa primer dapat menyebabkan hibridisasi silang satu sama lain dan kemungkinan terjadi kesalahan (*mix priming*) dengan templat lain.

c. Desain Primer Parameter untuk MAS-PCR

Desain set primer spesifik adalah penting untuk keberhasilan reaksi multipleks. Pertimbangan desain primer penting yang akan dijelaskan di bawah ini merupakan kunci untuk amplifikasi spesifik dengan hasil tinggi.

1. Panjang Primer

MAS-PCR melibatkan perancangan sejumlah besar primer, maka panjang primer yang dirancang harus sesuai. Biasanya, primer panjangnya pada kisaran 18-22 basa.

2. Suhu *Melting*

Biasanya digunakan temperatur antara 55°C - 60°C. Untuk primer urutan dengan konten GC tinggi, primer lebih dianjurkan menggunakan temperatur yang lebih tinggi (75°C - 80°C).

3. Spesifisitas

Penting untuk mempertimbangkan spesifisitas primer yang dirancang untuk urutan target, terutama karena kompetisi yang terjadi ketika urutan beberapa target berada dalam wadah reaksi tunggal.

4. Hindari Formasi Primer Dimer

Primer-primer yang dirancang harus diperiksa untuk pembentukan dimer primer, dengan semua primer dalam campuran reaksi. Dimerisasi menyebabkan amplifikasi tidak spesifik.

d. Keuntungan dari MAS-PCR

1. Kontrol Internal

Masalah potensial dalam PCR sederhana karena kegagalan termasuk reaksi negatif palsu atau positif palsu karena adanya kontaminasi. Negatif palsu sering terungkap dalam tes multiplex karena ampikon masing-masing memberikan kontrol internal untuk amplifikasi fragmen lainnya.

2. Efisiensi

Biaya untuk reagen dan waktu persiapan yang kurang dalam MAS-PCR dibandingkan dengan penggunaan beberapatabung dalam uniplex PCR.

Reaksi multipleks sangat ideal untuk polimerase yang mahal dan template dalam pasokan pendek.

3. Indikasi Kualitas Template

Kualitas template dapat ditentukan secara lebih efektif dalam MAS-PCR dibanding dalam reaksi PCR sederhana.

4. Indikasi Jumlah Template

Amplifikasi eksponensial dan standar internal MAS-PCR dapat digunakan untuk menilai jumlah template tertentu dalam sampel. Untuk kuantitatif template lebih akurat dengan MAS-PCR, jumlah template referensi, jumlah siklus reaksi, dan penghambatan minimum dari penggandaan produk untuk setiap siklus harus diperhitungkan.

E. Kerangka Konseptual Dan Hipotesis Penelitian

1. Kerangka Konseptual Penelitian

Beberapa hasil penelitian yang dapat mendukung kerangka konsep penelitian seperti yang dijelaskan di bawah ini:

1. **Abadco DL dan Steiner P, (1992)**, membandingkan sensitivitas bilas lambung dengan bilas bronchoalveolar untuk mengisolasi *Mycobacterium tuberculosis* dari 20 anak dengan presuntif diagnosis tuberculosis primer. Dilakukan smear dan kultur cairan lambung dan cairan bronchoalveolar, dimana didapatkan hasil bilas lambung lebih baik daripada bilas bronchoalveolar untuk diagnosis tuberculosis pada anak.
2. **Tan,MF., et al. (1997)**, menguji penggunaan PCR untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* dengan specimen klinik yang berbeda, dimana di dapatkan hasil sensitivitas PCR sebesar 100% dalam mendeteksi tuberkulosis dari sampel sputum, cairan bronchoalveolar, cairan pleura dan specimen non pulmonary.
3. **Mark N Lobato, et al., (1998)**, mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* dari cairan lambung yang dikoleksi dari pasien anak. Dari 100 penderita tuberkulosis 80 anak diambil cairan lambung, didapatkan 33 (41%) hasil kultur tuberkulosis dari 80 anak positif tuberkulosis, dimana cairan lambung yg d ambil dari pasien anak rawat inap lebih banyak ditemukan positif dibandingkan pasien rawatjalan dan didapatkan 3 isolat (9%) yang resisten terhadap isoniazid.

4. **Singh M., et al (2000)**, melakukan perbandingan hasil mycobacteriological dari bilas lambung dan bilas bronchoalveolar pada anak penderita tuberkulosis, dan mendapatkan hasil yang tidak berbeda antara bilas lambung dengan bilas bronchoalveolar.
5. **Okutan O., et al (2003)**, melihat kontribusi diagnostic bilas lambung dan bilas bronchial pada penderita yang tidak mampu mengeluarkan dahak atau yang smearnya negative. Dari hasil penelitiannya menyimpulkan bahwa bilas lambung sangat berguna untuk deteksi dini resistensi kuman tuberkulosis, dan bilas bronchial sangat berguna pada penderita yang hasil smearnya negative.
6. **Chierakul N., et al.,(2003)** melakukan validasi pada BTA negative dan PCR dari sampel bilas lambung untuk mendiagnosa tuberkulosis dengan smear negative. Menyimpulkan bahwa cairan lambung sangat berguna untuk mendiagnosa tuberkulosis dengan smear negative.
7. **Berggren Palme I, et al., (2004)**, mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* dari cairan lambung dan sputum yang di koleksi dari anak penderita HIV negative dan Positif pada pasien rawat inap maupun pasien rawat jalan , mendapatkan bahwa sampel cairan lambung yang diambil dari anak berusia dibawah 6 tahun dan 3 sampel sputum pada anak yang lebih tua memberikan jumlah mencapai 50% kuman *Mycobacterium tuberculosis* yang cukup untuk kultur dan diagnose lebih lanjut.

8. **Maciel EL., et al (2008)**, meneliti akurasi penggunaan bilas lambung penderita rawat inap dan rawat jalan dalam mendiagnosa tuberkulosis pada anak, dimana didapatkan kesimpulan yang menunjukkan bahwa penggunaan bilas lambung untuk diagnose tuberkulosis pada pasien rawat inap maupun rawat jalan adalah sama.
9. **Hatherill M., et al (2009)**, menggunakan induksi dahak atau bilas lambung untuk diagnosis tuberkulosis anak dalam komunitas, mendapatkan hasil bahwa pengambilan sampel induksi dahak ekuivalen dengan bilas lambung, namun untuk optimalnya diagnosis lebih baik induksi dahak dan bilas lambung diambil pada hari yang sama.
10. **Baghaei P., et al (2011)**, Melakukan penelitian dengan melihat kegunaan bilas lambung untuk diagnose tuberkulosis pada penderita yang tidak mampu mengeluarkan dahak, Dari penelitian tersebut didapatkan hasil 85,7% positif smear, 87% sensitive obat, 2.2% resisten INH dan Rifampisin, MDR –tuberkulosis

Beberapa hasil penelitian dan teori yang dapat mendukung kerangka teori penelitian dapat dilihat secara berturut-turut sebagai berikut:

Dari abstraksi dan ekstrapolasi berbagai penelitian tersebut di atas maka dapat dideduksikan untuk menyusun kerangka konseptual sebagai berikut:

Pada umumnya sampel yang dapat digunakan untuk mendeteksi atau mendiagnosis keberadaan kuman *Mycobacterium tuberculosis* dan resistensi

INH pada penderita suspek TB adalah sampel sputum, akan tetapi pada TB anak sputum sering tertelan sehingga menyulitkan untuk mendiagnosa TB pada anak.

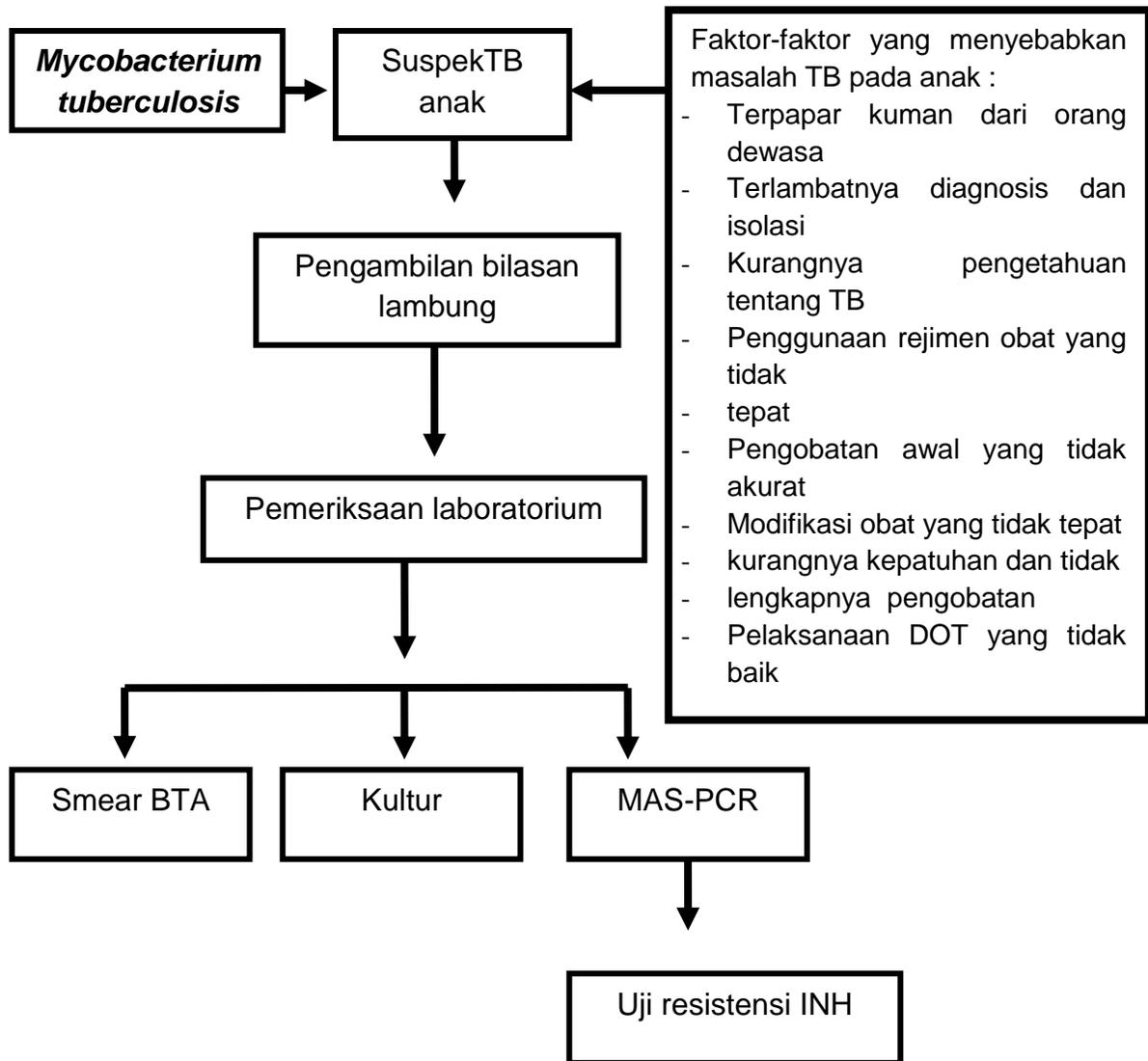
Alternatif sampel yang dapat digunakan selain sputum untuk mendeteksi keberadaan kuman *Mycobacterium tuberculosis* pada anak adalah bilasan lambung, namun hal tersebut masih jarang dilakukan. Oleh karenanya dibutuhkan penelitian lebih lanjut tentang penggunaan bilas lambung dalam mendiagnosa TB.

Metode yang biasa digunakan untuk mendeteksi TB anak adalah dengan uji tuberculin dan foto thorax serta melihat riwayat kontak dengan keluarga yang positif TB (Singh M. et al, 2000) . Akan tetapi metode ini memiliki sensitivitas dan spesifitas yang rendah. Selain itu metode ini tidak dapat digunakan untuk mendeteksi adanya resistensi antibiotik pada TB anak.

Dari penelitian sebelumnya (Tan MF., et al) menggunakan metode PCR untuk mendeteksi adanya resistensi antibiotik pada *Mycobacterium tuberculosis* pada TB anak.

Berdasarkan pemaparan di atas hal menarik yang dapat dijadikan obyek penelitian dan dapat dikembangkan lebih lanjut adalah menggunakan bilasan lambung untuk mendeteksi keberadaan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* terkhusus pada suspek TB anak dan juga untuk mendeteksi keberadaaan resistensi INH pada suspek TB anak.

Untuk memudahkan pemahaman terhadap kerangka konseptual tersebut akan diketengahkan dalam bentuk skema sebagai berikut ini.



2.Hipotesis

1. Penggunaan bilasan lambung adalah sangat representative untuk mendeteksi TB pada anak
2. Penggunaan MAS-PCR sebagai metode yang spesifik untuk mendeteksi adanya resistensi pada INH

F. Definisi Operasional

- Tuberkulosis adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*
- *Mycobacterium tuberculosis* merupakan basil gram positif, berbentuk batang, mempunyai sifat khusus yaitu tahan terhadap asam pada pewarnaan, oleh karena itu disebut pula sebagai basil tahan asam (BTA), yang menyebabkan penyakit TB
- Bilas lambung adalah sampel yang cocok untuk mendeteksi keberadaan *Mycobacterium tuberculosis* pada pasien anak
- Metode PCR adalah metode yang spesifik untuk mendeteksi resistensi pada obat anti TB.

BAB III