

**DETEKSI *Mycobacterium tuberculosis* YANG
RESISTEN TERHADAP ISONIAZID (INH)
DENGAN MEDIUM BILAYER DARI PASIEN
TUBERKULOSIS PARU DI MAKASSAR**



FAHIMA

N121 07 034



**PROGRAM KONSENTRASI
TEKNOLOGI LABORATORIUM KESEHATAN
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2012**

**DETEKSI *Mycobacterium tuberculosis* YANG RESISTEN
TERHADAP ISONIAZID (INH) DENGAN MEDIUM BILAYER
DARI PASIEN TUBERKULOSIS PARU DI MAKASSAR**

SKRIPSI

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**FAHIMA
N121 07 034**

**PROGRAM KONSENTRASI
TEKNOLOGI LABORATORIUM KESEHATAN
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2012**

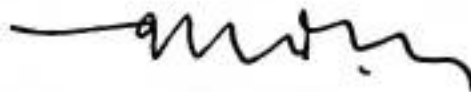
**DETEKSI *Mycobacterium tuberculosis* YANG RESISTEN
TERHADAP ISONIAZID (INH) DENGAN MEDIUM BILAYER
DARI PASIEN TUBERKULOSIS PARU DI MAKASSAR**

FAHIMA

N121 07 034

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,



**Prof. Dr. H. M. Natsir Djide, MS, Apt
NIP. 19500817 197903 1 003**

Pembimbing Pertama,



**Prof. dr. H. M. Nasrum Massi, Ph.D.
NIP. 19670910 199603 1 001**

Pembimbing Kedua,



**Usfar, S.Si., M.Si, Apt.
NIP.19710109 199702 1 001**

Pada tanggal, 22 Februari 2012

PENGESAHAN

DETEKSI *Mycobacterium tuberculosis* YANG RESISTEN TERHADAP ISONIAZID (INH) DENGAN MEDIUM BILAYER DARI PASIEN TUBERKULOSIS PARU DI MAKASSAR

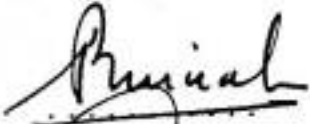




Oleh:

FAHIMA
N121 07 034

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
Pada tanggal: 22 Februari 2012

Panitia Penguji Skripsi :

1. Dra. Hj. Nursiah Hasyim, CES, Apt.
(Ketua)
2. Drs. H. Kus Haryono, MS, Apt.
(Sekretaris)
3. Prof. Dr. H.M. Natsir Djide, MS, Apt.
(Ex Officio)
4. Prof. dr. M. Nasrum Massi, Ph.D.
(Ex Officio)
5. Usmar, S.Si., M.Si., Apt.
(Ex Officio)
6. dr. Isra Wahid, Ph.D.
(Anggota)

: 
: 
: 
: 
: 



Mengetahui :
Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin

Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA, Apt.
NIP. 19560114 198601 2 001



PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini adalah karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh, batal demi hukum.

Makassar, 22 Februari 2012

Penyusun,

FAHIMA

Jangan jadikan suatu kegagalan sebagai alasan untuk takut mengalaminya kembali sehingga anda tak mau mencoba lagi , tapi lihatlah kegagalan sebagai kesuksesan mengetahui cara yang salah

"Mario Teguh"

Bermimpilah tentang apa yang ingin kamu impikan, pergilah ke tempat-tempat kamu ingin pergi, jadilah seperti yang kamu inginkan, karena kamu hanya memiliki satu kehidupan dan satu kesempatan untuk melakukan hal-hal yang ingin kamu lakukan

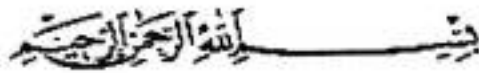
"Mario Teguh"

Masalah-masalah kita adalah buatan manusia, maka dari itu, dapat diatasi oleh manusia. Tidak ada masalah dalam takdir manusia yang tidak terjangkau oleh manusia.

"John F. Kennedy"

Untuk mencapai kesuksesan, kita jangan hanya bertindak, tapi juga perlu bermimpi, jangan hanya berencana, tapi juga perlu untuk percaya.

"Anatole France"



UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang senantiasa melimpahkan hidayah dan karunia-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Salawat dan salam semoga senantiasa tercurah kepada junjungan Nabi Muhammad S.A.W beserta para sahabat yang mengajarkan Iman, Islam, dan ilmu sehingga dunia ini terterangi olehnya.

Skripsi ini di susun berdasarkan hasil penelitian penulis dengan judul "DETEKSI *Mycobacterium tuberculosis* YANG RESISTEN TERHADAP ISONIAZID (INH) DENGAN MEDIUM BILAYER DARI PASIEN TUBERCULOSIS PARU DI MAKASSAR" untuk memenuhi syarat mencapai gelar Sarjana Program Studi Teknologi Laboratorium Kesehatan pada Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini tidak akan terselesaikan tanpa bantuan berbagai pihak, olehnya itu dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Usmar, S.Si., M.Si, Apt. selaku Penasehat Akademik penulis selama menjalani pendidikan di Fakultas Farmasi, terima kasih untuk waktu yang diberikan di tengah-tengah kesibukannya dalam mengarahkan penulis dalam kuliah.

2. Prof. Dr. H.M.Natsir Djide, MS, Apt. selaku Pembimbing Utama terima kasih untuk bimbingan selama ini sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan.
3. Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D selaku pembimbing pertama, dan Usmar, S.Si., M.Si, Apt. selaku pembimbing kedua, terima kasih untuk bimbingan, semangat, serta waktu sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan.
4. Dekan Fakultas Farmasi, Prof.Dr. Elly Wahyudin, DEA, Apt, ketua program konsentrasi TLK, Subehan, M.Pharm.Sc., Ph.D, Apt dan seluruh staf Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
5. Dosen-dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ilmu selama penulis menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi UNHAS.
6. Rekan penelitian Handayani M.Si terima kasih untuk doa, bimbingan, dukungan dan waktu sehingga membantu penulis menyelesaikan skripsi ini.
7. Teramat khusus, rasa terima kasih yang tak terhingga penulis sampaikan kepada yang tercinta Ayahanda HI. AMIN HI. MUSTAFA dan Ibunda Hj. ZAINAB HI. AMIN yang selama ini telah banyak memberikan dorongan moril dan bantuan material serta doa yang sangat tulus sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

8. Demikian pula buat kakak tersayangku FAIZAL untuk doa, kasih sayang dan segalanya yang tulus baik secara moril maupun materil. Terima kasih telah menjadi kakak yang terbaik.
9. Buat Adik tersayangku FARADILLA dan FAHMI Terima kasih atas semangat, dan doanya.
10. Buat Adik Kecilku Putri Anggi yang selalu memberikan hiburan.
11. Sitty A Tamher, Dewi Sartika Mahulette, Rahayu Hidayati L, dan Nadirah B Hamisi terima kasih telah menjadi sahabat terbaik dalam suka maupun duka, canda tawa, kebersamaan dalam kenangan selama studi yang tak terlupakan.
12. Teman-teman TLK angkatan 07 "SP017" yang tidak bisa penulis tuliskan satu per satu.
13. Untuk anak-anak Pondokan Safar (Wahyuni s Amin, Muninar s. Amin, nurcitra, khujaima dan illy maikia) tanpa kalian kos-kosan gak bakalan rame.
14. Sahabatku Maharani, Inayah s. Abubakar, Sumarti, Fauzia Salahadin, misna Soleman dan anak – anak Claster Thabalai untuk semangat, dan doanya.

Semoga skripsi ini bermanfaat untuk kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi, Amin.

Makassar, 22 Februari 2012

Fahima

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai medium Bilayer dengan menggunakan sampel sputum pada pasien tuberculosis di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi resistensi isoniazid (INH) pada *Mycobacterium tuberculosis* dengan medium Bilayer. Penelitian ini menggunakan metode cross sectional dilakukan dari bulan Agustus 2011 hingga Oktober 2011 dengan jumlah sampel sebanyak 42 sampel sputum dari pasien tuberculosis. Berdasarkan hasil penelitian dari 42 sampel, hasil uji kepekaan Isoniazid (INH) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* menggunakan metode Bilayer memiliki nilai sensitivitas 75%, spesifisitas 100%, Nilai Prediksi positif (NPP) 100% dan Nilai Prediksi negatif (NPN) 94 %.

ABSTRACT

Comparative research has been done on the medium Bilayer using sputum sample in tuberculosis patients at the Laboratory of Microbiology, Faculty of Medicine Hasanuddin University in Makassar. This study aimed to detect resistance to isoniazid (INH) in Mycobacterium tuberculosis with bilayer medium. The research which done used cross sectional studies at August 2011 until October 2011 with total sample are 42 sputums from patients with tuberculosis. Based on the results from 42 samples showed result Isoniazid (INH) susceptibility Bilayer are 75%, sensitivity, 100 %, specificity, 100% positive prediction value (PPV), and 94%. prediction value (NPV).

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
HALAMAN PERNYATAAN	vi
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vii
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	3
II.1 Tinjauan Umum Tuberculosis	3
II.2 Patogenesis	3
II.3 Klasifikasi Penyakit Tuberculosis.....	4
II.4 Karakteristik <i>Mycobacterium Tuberculosis</i>	5
II.5 Manifestasi Klinis.....	6
II.6 Cara Penularan dan Sumber Penularan Tuberculosis	7
II.6.1 Penularan Tuberculosis.....	7

II.6.2 Sumber penularan	8
II.7. Pemeriksaan Penyakit Tuberculosis	10
II.8. Pemeriksaan kultur.....	12
II.8.1 Definisi.....	12
II.8.2 Medium Bilayer.....	13
II. 9 Pengobatan Tuberkulosis Paru.....	15
II.10. Resistensi OAT.....	15
II.11. Isoniazid (INH).....	15
II.12. Mekanisme Resistensi OAT Isoniazid (INH).....	16
BAB III METODE PENELITIAN.....	18
III.1 Jenis dan Desain Penelitian	18
III.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	18
III.3 Populasi Penelitian	18
III.4 Sampel Penelitian.....	18
III.5 Kriteria Sampel Penelitian	20
III.5.1 Kriteria Inklusi	20
III.5.2 Kriteria Eksklusi	20
III.6 Definisi Operasional.....	20
III.7 Alat dan Bahan penelitian.....	21
III.7.1 Alat Penelitian.....	21
III.7.2 Bahan Penelitian	21
III.8 Prosedur Kerja.....	21
III.8.1 Dekontaminasi Sampel.....	21

III.8.1.1 Persiapan Reagen Dekontaminasi	22
III.8.1.2 Dekontaminasi Sputum.....	22
III.8.1.3 Smear dengan Pewarnaan Ziehl-Neelsen.....	23
III.8. 2 cara pembuatan medium.....	24
III.8.2.1 cara pembuatan medium LJ.....	24
III.8.2.2 cara pembuatan Middle Brook 7H9.....	25
III.8.2.3 cara pembuatan konsentrasi INH.....	25
III.8.2.4 DST (Drug Susceptible Test) pada LJ.....	25
III.8.3 Kultur.....	26
III.8.3.1 Kultur Pada Medium Bilayer.....	26
III. 8.3.2 Kultur Pada Medium Cair MGIT.....	26
III.9. Persiapan Inokulum Untuk Uji Obat.....	27
III.9.1 Pada medium Bilayer	27
III.9.2. pada medium MGIT.....	28
III.10 Analisis Data.....	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	30
IV.1 Hasil Penelitian	31
IV.2 Pembahasan.....	32
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	37
V.1 Kesimpulan	37
V.2 Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	40

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Jenis , sifat dan dosis OAT.....	15
2. Hasil metode bilayer.....	30
3. pertumbuhan <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada medium Bilayer dengan hasil kultur positif.....	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Hasil pertumbuhan <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada medium Bilayer dan MGIT dengan hasil DST pada INH.....	31
2. Hasil pertumbuhan <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada medium bilayer dan MGIT.....	32

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja penelitian	40
2. Hasil kultur <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada medium Bilayer	42
5. Komposisi medium	44
3. Perhitungan Hasil Uji Sensitivitas dan Spesifisitas Medium Bilayer	45
4. Pengamatan Pengecatan Basil Tahan Asam	46
5. Medium MGIT	47
6. Medium Bilayer.....	47



DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/Singkatan	Arti
BTA	Basil Tahan Asam
LJ	Lowenstein Jensen
TB	Tuberkulosis
OADC	Oleic Acid Dexrose Catalase
PANTA	Polymixin Amphotericin Nadilixid Trimftropim
MDR-TB	<i>Multi Drug resistant Tuberculosis</i>
xg	<i>x gravity</i>
McFarland	kerapatan sel bakteri setara $3,00 \times 10^8$ sel/ml

BAB I

PENDAHULUAN

Tuberkulosis adalah suatu penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*, yang berbentuk basil, sehingga penyakit ini memerlukan waktu lama untuk mengobatinya (1). Tahun 2007, insidensi tuberkulosis di Indonesia didasarkan pada pemeriksaan sputum (basil tahan asam) adalah 228 per 100.000 orang. Menurut WHO (2009), sebagaimana yang dikutip oleh Departemen Kesehatan RI, perkiraan prevalensi tuberkulosis adalah 244 per 100.000 orang dan kematian akibat tuberkulosis adalah 39 per 100.000 orang / tahun (2). Khusus di Kota Makassar, berdasarkan data yang diperoleh dari Bidang Pencegahan dan Penanggulangan Penyakit Dinas Kesehatan Kota Makassar, jumlah penderita tuberkulosis paru di klinik sebanyak 10.079 penderita, dengan rincian 7.915 berdasarkan pencatatan dan pelaporan 36 Puskesmas se-Kota Makassar, sisanya 2.164 berdasarkan laporan dari 15 Rumah Sakit yang di Kota Makassar (2).

Telah didapatkan bahwa penggunaan medium bilayer menghasilkan pertumbuhan yang pesat bagi *Mycobacterium tuberculosis* dalam waktu 72 jam, tingkat isolasi ini lebih tinggi dibandingkan dengan medium konvensional lainnya dan sensitivitas dari obat dapat dilihat dengan baik, Dengan demikian medium bilayer ini dapat digunakan untuk mendapatkan laporan kultur yang lebih cepat (3).

Obat yang digunakan untuk tuberkulosis biasanya adalah INH (isoniazid), Rifampisin, Etambutol, Streptomisin, Pirazinamid, Exionamid,

Sikloserin, Amikasin, Kapreomisin dan Kanamisin. Namun dalam proses pengobatan sering terjadi resistensi terhadap obat-obat ini (4). Pemberian obat untuk MDRTB (*Multi Drug Resistant Tuberculosis*) kepada kasus non-MDRTB selain menghamburkan biaya, juga beresiko efek samping yang besar dan menurunnya angka kesembuhan. Sebaliknya penggunaan parsial obat untuk MDRTB juga beresiko mempermudah timbulnya XDRTB (*Extensively Drug Resistant Tuberculosis*) (5).

Berdasarkan pemikiran dan mengingat pentingnya efisiensi waktu pemeriksaan tuberkulosis, perlu dikembangkan suatu metode dengan biaya rendah, cepat dan aman untuk mendeteksi penyakit tuberkulosis, di antaranya dengan medium bilayer yang merupakan kombinasi antara medium Lowenstein-Jensen (LJ) dan mediu Middlebrook 7H 10.

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mendeteksi adanya *Mycobacterium tuberculosis* yang resisten terhadap isoniazid dengan metode medium bilayer.

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran tentang medium bilayer dan resistensi isoniazid (INH) sehingga dapat menambah wawasan peneliti mengenai penyakit Tuberkulosis khususnya tentang metode Bilayer yang kini mulai digunakan sebagai alternatif untuk mendapatkan hasil dengan pengerjaan yang lebih cepat dibandingkan metode lainnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Tinjauan Umum Tuberkulosis

Tuberkulosis (TB) adalah suatu penyakit infeksi *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*). Bakteri golongan *mycobacterium* berbentuk batang yang agak sulit diwarnai, tetapi sekali diwarnai, sulit untuk menghapuskan dengan zat asam. Oleh karena itu disebut juga kuman batang tahan asam (BTA) (12).

II.2 Patogenesis

Mycobacterium tuberculosis adalah sejenis kuman berbentuk batang, berukuran panjang 1-4 mm dengan tebal 0,3-0,6 mm. Sebagian besar komponen *Mycobacterium tuberculosis* adalah berupa lemak/lipid sehingga kuman mampu tahan terhadap asam serta tahan terhadap zat kimia dan faktor fisik. kuman TB cepat mati dengan sinar matahari langsung, tetapi dapat bertahan hidup beberapa jam ditempat yang gelap dan lembab.

Sumber penularan penderita TB biasanya melalui udara yang tercemar dengan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang dilepaskan pada saat penderita TBC batuk atau bersin, penderitaan menyebarkan kuman ke dalam udara dalam bentuk *droplet* (percikan dahak). Droplet yang mengandung kuman dapat bertahan diudara pada suhu kamar selama beberapa jam. Orang dapat terinfeksi kalau droplet tersebut terhirup ke

dalam saluran pernapasan. Jadi penularan TB tidak terjadi melalui perlengkapan makan, baju dan perlengkapan tidur(13,14).

II.3 Klasifikasi Penyakit Tuberculosis

Untuk menentukan klasifikasi penyakit TB, ada tiga hal yang perlu diperhatikan, yaitu sebagai berikut :

- Organ tubuh yang sakit : paru atau ekstra paru
- Hasil pemeriksaan dahak Basil Tahan Asam (BTA) : positif atau negatif: BTA merupakan bakteri yang tidak rusak dengan pemberian asam.
- Tingkat keparahan penyakit : ringan atau berat

Penentuan ini penting untuk menentukan paduan obat anti tuberculosis yang sesuai sebelum pengobatan dimulai.

Klasifikasi Penyakit Tuberculosis yaitu :

1. TBC paru adalah TBC yang menyerang jaringan paru-paru. TBC paru dibedakan menjadi dua macam yaitu sebagai berikut.

a. TBC paru BTA positif (sangat menular)

- 1). Sekurang-kurangnya 2 dari 3 pemeriksaan dahak, memberikan hasil yang positif.
- 2). Satu pemeriksaan dahak memberikan hasil yang positif dan foto rontgen dada menunjukkan TBC aktif.

b. TBC paru BTA negatif

Pemeriksaan dahak positif negatif/foto rontgen dada menunjukkan TBC aktif. Positif negatif yang dimaksudkan disini adalah "hasilnya

meragukan".Jumlah kuman yang ditemukan pada waktu pemeriksaan belum memenuhi syarat positif.

2. TBC ekstra paru adalah TBC yang menyerang organ tubuh lain selain paru-paru, misal selaput paru, selaput otak, selaput jantung, kelenjar getah bening, tulang, persendian kulit, usus, ginjal, saluran kencing dan lain-lain.(17)

II.4 Karakteristik *Mycobacterium tuberculosis*

Karakteristik *Mycobacterium tuberculosis* adalah sebagai berikut (17)

1. Merupakan jenis kuman berbentuk batang berukuran panjang 1-4 mm dengan tebal 0,3-0,6 mm.
2. Bakteri tidak berspora dan tidak berkapsul.
3. Pewarnaan *Ziehl-Neelsen* tampak berwarna merah dengan latar belakang biru.
4. Bakteri sulit diwarnai dengan Gram tapi jika berhasil hasilnya Gram positif.
5. Pemeriksaan menggunakan mikroskop elektron dinding sel tebal, mesosom mengandung lemak (lipid) dengan kandungan 25%, kandungan lipid memberi sifat yang khas pada bakteri yaitu tahan terhadap kekeringan, alkohol, zat asam, alkalis dan germisida tertentu.
6. Sifat tahan asam karena adanya perangkap fuksin intrasel, suatu pertahanan yang dihasilkan dari kompleks mikolat fuksin yang terbentuk di dinding.

7. Pertumbuhan sangat lambat, dengan waktu pembelahan 12-18 jam dengan suhu optimum 37°C.
8. Kuman kering dapat hidup di tempat gelap berbulan-bulan dan tetap virulen.
9. Kuman mati dengan penyinaran langsung matahari.

II.5 Manifestasi Klinis

Gejala penyakit TBC dapat dibagi menjadi gejala umum dan gejala khusus yang timbul sesuai dengan organ yang terlibat. Gambaran secara klinis tidak terlalu khas terutama pada kasus baru, sehingga cukup sulit untuk menegakkan diagnosa secara klinik

Gejala sistemik/umum

- Demam tidak terlalu tinggi yang berlangsung lama, biasanya dirasakan malam hari disertai keringat malam. Kadang-kadang serangan demam seperti influenza dan bersifat hilang timbul.
- Penurunan nafsu makan dan berat badan.
- Batuk-batuk selama lebih dari 3 minggu (dapat disertai dengan darah).
- Perasaan tidak enak (*malaise*), lemah.

Gejala khusus

- Tergantung dari organ tubuh mana yang terkena, bila terjadi sumbatan sebagian bronkus (saluran yang menuju ke paru-paru) akibat penekanan kelenjar getah bening yang membesar, akan menimbulkan suara "mengi", suara nafas melemah yang disertai sesak.



- Kalau ada cairan dirongga *pleura* (pembungkus paru-paru), dapat disertai dengan keluhan sakit dada.
- Bila mengenai tulang, maka akan terjadi gejala seperti infeksi tulang yang pada suatu saat dapat membentuk saluran dan bermuara pada kulit di atasnya, pada muara ini akan keluar cairan nanah.
- Pada anak-anak dapat mengenai otak (lapisan pembungkus otak) dan disebut sebagai *meningitis* (radang selaput otak), gejalanya adalah demam tinggi, adanya penurunan kesadaran dan kejang-kejang.

Pada pasien anak yang tidak menimbulkan gejala, TBC dapat terdeteksi kalau diketahui adanya kontak dengan pasien TBC dewasa. Kira-kira 30-50% anak yang kontak dengan penderita TBC paru dewasa memberikan hasil *uji tuberkulin* positif. Pada anak usia 3 bulan – 5 tahun yang tinggal serumah dengan penderita TBC paru dewasa dengan BTA positif, dilaporkan 30% terinfeksi berdasarkan pemeriksaan serologi (17)

II.6 Cara Penularan dan Sumber Penularan Tuberculosis

II.6.1 Penularan Tuberculosis

Menurut Nur Nasri, 1997 dalam Woro (1997), penularan penyakit TB dapat terjadi secara:

1. Penularan langsung

Penularan yang terjadi dengan cara penularan langsung dari orang ke orang yaitu dalam bentuk *droplet nuclei* pada orang yang berada pada jarak yang sangat berdekatan.

2. Penularan melalui udara

Penularan ini terjadi tanpa kontak dengan penderita dan dapat terjadi dalam bentuk *droplet nuclei* yang keluar dari mulut atau hidung, maupun dalam bentuk dust (debu). Penularan melalui udara memegang peranan yang cukup penting dalam penularan penyakit TB.

Droplet nuclei merupakan partikel yang sangat kecil sebagai sisa droplet yang mengering. Sedangkan Dust adalah bentuk partikel dengan berbagai ukuran sebagai hasil dari resuspensi partikel yang terletak di lantai, di tempat tidur serta yang tertiuip angin bersama debu lantai/ tanah.

3. Penularan melalui makanan/minuman

Penularan TB dalam hal ini dapat melalui susu (*milk borne disease*) karena susu merupakan media yang paling baik untuk pertumbuhan dan perkembangan mikro organisme penyebab, juga karena susu sering diminum dalam keadaan segar tanpa dimasak atau dipasteurisasi, sedangkan pada susu yang mengalami kontaminasi oleh bakteri tidak memperlihatkan tanda-tanda tertentu.

II.6.2 Sumber Penularan

Sumber penularan adalah penderita TBC BTA (+) Pada waktu batuk atau bersin, penderita menyebarkan kuman ke udara dalam bentuk *droplet* (percikan dahak). *Droplet* yang mengandung kuman dapat bertahan di udara pada suhu kamar selama beberapa jam. Orang dapat terinfeksi kalau *droplet* tersebut terhirup ke dalam saluran pernafasan. Setelah kuman TBC masuk ke dalam tubuh manusia melalui pernafasan, kuman TBC tersebut dapat

menyebarkan dari paru ke bagian tubuh lainnya, melalui sistem peredaran darah, sistem saluran limfe, saluran nafas, atau penyebaran langsung ke bagian-bagian tubuh lainnya.(19)

Daya penularan dari seorang penderita ditentukan oleh banyaknya kuman yang dikeluarkan dari parunya. Semakin tinggi derajat positif hasil pemeriksaan dahak, makin menular penderita tersebut. Bila hasil pemeriksaan negatif (tidak terlihat kuman), maka penderita tersebut tidak dianggap menular. Kemungkinan seseorang terinfeksi TBC ditentukan oleh konsentrasi *droplet* dalam udara dan lamanya menghirup udara tersebut. Selain itu, kontak jangka panjang dengan penderita TB dapat menyebabkan tertulari, seorang penderita tetap menular sepanjang ditemukan basil TB didalam sputum mereka. Penderita yang tidak diobati atau yang diobati tidak sempurna dahaknya akan tetap mengandung basil TB selama bertahun-tahun.(19).

Tingkat penularan sangat tergantung pada hal-hal seperti: jumlah basil TB yang dikeluarkan, virulensi dari basil TB, terpajannya basil TB dengan sinar ultra violet, terjadinya aerosolisasi pada saat batuk, bersin, bicara atau pada saat bernyanyi, tindakan medis dengan risiko tinggi seperti pada waktu otopsi, intubasi atau pada saat waktu melakukan bronkoskopi. Faktor yang mempengaruhi kemungkinan seseorang menjadi penderita TB adalah daya tahan tubuh yang rendah, diantaranya karena gizi buruk atau HIV/AIDS (20).

II.7 Pemeriksaan Penyakit Tuberculosis

Dalam program penanggulangan tuberculosis, diagnosis ditegakkan melalui pemeriksaan dahak secara mikroskopis langsung. Diagnosis pasti tuberculosis melalui pemeriksaan kultur atau biakan dahak. Pemeriksaan kultur memerlukan waktu lebih lama (paling cepat sekitar 6 minggu dan mahal). Pemeriksaan 3 spesimen (SPS) dahak secara mikroskopis langsung, nilainya identik dengan pemeriksaan kultur secara mikroskopis merupakan pemeriksaan yang paling efisien, mudah dan murah, dan hampir semua unit laboratorium dapat melakukannya (20,21,22).

Bila ada kecurigaan terhadap terjangkitnya penyakit tuberculosis segera dilakukan pemeriksaan yang meliputi :

1. Pemeriksaan Basil Tahan Asam (BTA)

Secara garis besar pemeriksaan BTA terdiri dari pemeriksaan mikroskopis sputum BTA dan kultur mycobacterium

2. Pemeriksaan fisik
3. Pemeriksaan foto dada (Radiologis)
4. Pemeriksaan tambahan

Tahapan yang dilakukan dalam rangka isolasi Mycobacterium adalah pengolahan bahan. Pengolahan bahan pemeriksaan yang terdiri dari berbagai jenis sampel, perlu diperhatikan dan dilakukan sesuai petunjuk dan hal ini amat penting untuk keberhasilan dan kesuksesan hasil pemeriksaan. Pada umumnya bahan pemeriksaan itu berupa sputum, bilasan lambung,

urin, tinja, cairan pleura, cairan sendi, cairan serebrospinal, nanah dan jaringan tubuh lainnya (17,20).

Metode dekontaminasi adalah salah satu metode yang digunakan dalam diagnosis tuberkulosis, namun metode ini masih sangat jarang digunakan di Indonesia. Bila didapatkan pada pemeriksaan dengan hasil BTA positif, barulah dapat dinyatakan, bahwa yang bersangkutan tersangka menderita tuberkulosis Paru, dan masih diperlukan pemeriksaan lanjutan untuk menegaskan diagnose yang tepat. Didekontaminasi sputum dilaksanakan dengan memberikan perlakuan kepada sputum berupa tiga macam zat kimia yaitu 4% NaOH, 2,9% Sodium Citrat dan N-Acetyl-L-Cystein. Hasil akhir setelah disentrifugasi dan supernatan dibuang, lalu endapannya yang mengandung BTA ditambahkan 1 ml NaCL steril. Sediaan inilah yang digunakan untuk pemeriksaan Zielh-Neelsen, Kultur dan PCR. Dengan demikian metode *dekontaminasi sputum* mengkonsentrasikan BTA dari sampel sputum yang diperiksa (17,18,20).

Larutan NaOH yang diberikan pada proses dekontaminasi merupakan basa kuat, yang dapat membunuh kuman selain mikobakterium serta berfungsi pula sebagai agen mukolitik. Mycobacterium relatif lebih resisten terhadap larutan dekontaminasi yang sifat keasamannya lebih kuat dibanding dengan bakteri kontaminan yang tidak tahan asam. Sehingga metode dekontaminasi dengan NaOH banyak digunakan secara luas karena cepat dan relatif efektif dalam mengurangi sejumlah kontaminan. Larutan yang bersifat basa kuat dapat membunuh bakteri yang tidak tahan dengan basa



karena kondisi pH lingkungannya berubah, yang mana pengaruh basa kuat dapat menghidrolisiskan struktur sel sehingga hancur, karena mengganggu sintesis protein bakteri dengan mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat sehingga dapat merusak sel tanpa memperbaiki kembali. *Mycobacterium tuberculosis* memiliki pH optimum 6,8-8,0 sehingga dengan konsentrasi NaOH yang tinggi dapat membunuh *Mycobacterium tuberculosis*.(18,20)

Spesies *Mycobacterium* dikelompokkan sebagai bakteri tahan asam karena membran selnya tidak dapat ditembus oleh zat pencelup dan pewarna. Meskipun demikian, sekali diwarnai, bakteri tahan asam akan menahan zat warna ketika dihangatkan dan diberi perlakuan dengan komponen asam organik. Beberapa cara pewarnaan yang digunakan pada pemeriksaan Mikobakteria (19,20)

II.8 Pemeriksaan kultur

II.8.1. Definisi

Kultur adalah cara yang paling sensitif dan merupakan gold standard untuk mendiagnosis *Mycobacterium* terutama untuk sputum yang sedikit kumannya dan sulit ditemukan dengan cara mikroskopik. Spesimen kultur menggunakan bahan dari sputum, darah, limfonodus, sumsum tulang, atau bahan yang dieksresikan tubuh. Metode kultur lebih disukai termasuk lisis leukosit darah perifer yang melepaskan *Mycobacterium* intraseluler diikuti inokulasi ke media padat (misalnya Lowenstein-Jensen, Middlebrook 7H9 agar) atau ke dalam Radiometrik broth. Penggunaan deteksi sistim

radiometrik, dapat mendeteksi mycobacterium dalam waktu 6-12 hari, pada media padat selama 15-40 hari.(18)

II.8.2. Medium Bilayer

Medium bilayer merupakan perpaduan antara medium LJ dan medium Middle Brook 7H9. Pada penelitian sebelumnya Bhattacharya S. dkk. dari Departemen Mikrobiologi Universitas Calcutta India mengembangkan penelitian mengenai penggunaan medium bilayer untuk menumbuhkan *Mycobacterium tuberculosis*. Dimana dalam penelitian tersebut didapatkan bahwa penggunaan medium bilayer menghasilkan pertumbuhan yang pesat bagi *Mycobacterium tuberculosis* dalam waktu 72 jam, tingkat isolasi ini lebih tinggi dibandingkan dengan medium konvensional lainnya. Dengan demikian medium bilayer ini dapat digunakan untuk mendapatkan laporan kultur yang lebih cepat.(6)

Media bilayer dirancang khusus, terdiri dari lapisan bawah medium Lowenstein Jensen tanpa hijau malachite dan lapisan atas medium Middlebrook 7H9 dengan antibiotik ditambahkan dan anti jamur sudah disiapkan. Dahak dari kasus klinis dicurigai TB, cairan pleura dan sampel nanah diinokulasi pada medium bilayer bersama dengan inokulasi pada konvensional lainnya media setelah dekontaminasi yang tepat dan konsentrasi sampel. Sensitivitas antibiotik pola adalah ditentukan terhadap kontrol dan berkembang pesat beberapa strain uji dengan teknik difusi dan Hasil bisa dicatat dari hari 3 - 7 .(6)

Medium bilayer merupakan medium yang baru sehingga memberikan keunikan dalam mendeteksi mycobacterium. dimana medium bilayer akan memberikan kultur yang sederhana, dengan biaya yang lebih murah bagi laboratorium tersebut.(6)

II. 9 Pengobatan Tuberkulosis Paru

Obat yang digunakan untuk TB digolongkan atas dua kelompok yaitu :

- *Obat primer* : INH (isoniazid), Rifampisin, Etambutol, Streptomisin, Pirazinamid. Memperlihatkan efektifitas yang tinggi dengan toksisitas yang masih dapat ditolerir, sebagian besar penderita dapat disembuhkan dengan obat-obat ini.
- *Obat sekunder* : Exionamid, Paraaminosalisilat, Sikloserin, Amikasin,
- Kapreomisin dan Kanamisin. (7,12)

Tabel 1. Dosis obat antituberkulosis (OAT)

Obat	Dosis harian (mg/kgbb/hari)	Dosis 2x/minggu (mg/kgbb/hari)	Dosis 3x/minggu (mg/kgbb/hari)
INH	5-15 (maks 300mg)	15-40(maks. 900 mg)	15-40 (maks. 900mg)
Rifampisin	10-20(maks600mg)	10-20 (maks.600 mg)	15-20 (maks. 600 mg)
Pirazinamid	15-40 (maks. 2 g)	50-70 (maks. 4 g)	15-30 (maks. 3 g)
Etambutol	15-25 (maks. 2,5 g)	50 (maks. 2,5 g)	15-25 (maks. 2,5 g)
Streptomisin	15-40 (maks. 1 g)	25-40 (maks. 1,5 g)	25-40 (maks. 1,5 g)

Sumber: TBC Indonesia: http://medicastore.com/tbc/pengobatan_tbc.html.

Meskipun demikian, pengobatan TBC paru-paru hampir selalu menggunakan tiga obat yaitu INH, rifampisin dan pirazinamid pada bulan pertama selama tidak ada resistensi terhadap satu atau lebih obat TBC primer ini (12,13)

II.10. Resistensi OAT

Jalur yang terlibat dalam perkembangan dan penyebaran TB resistensi ganda yaitu basil mengalami mutasi resisten terhadap satu jenis obat dan mendapatkan terapi OAT tertentu yang tidak adekuat. Terapi yang tidak adekuat dapat disebabkan oleh konsumsi hanya satu jenis obat saja (monoterapi direk) atau konsumsi obat kombinasi tetapi hanya satu saja yang sensitif terhadap basil tersebut (indirek monoterapi). Selanjutnya resistensi sekunder (dapatan) terjadi. Mutasi baru dalam pertumbuhan populasi basil menyebabkan resistensi obat yang banyak bila terapi yang tidak adekuat terus berlanjut. Lamanya pasien menderita infeksi disebabkan oleh keterlambatan diagnosis MDR TB dan hilangnya efektifitas terapi sehingga terjadi penularan jalur resisten obat terhadap kontak yang masih sensitif.(5,6,21)

II.11. Isoniazid (INH)

Isoniazid atau isonikotinil hidrazid yang disingkat dengan INH. Isoniazid secara *in vitro* bersifat tuberkulostatik (menahan perkembangan bakteri) dan tuberkulosid (membunuh bakteri). Isoniazid dapat masuk ke dalam sel Mtb dengan mudah sehingga dapat bekerja intra maupun ekstra sel sama baiknya. Isoniazid memiliki aktivitas yang tinggi terhadap Mtb dengan MIC 0,02-0,2 µg/ml. INH masuk ke dalam kuman dengan cara pasif. Selanjutnya akan diubah oleh katalase G (gen katG) Mtb menjadi bentuk aktif. Aktifasi menghasilkan berbagai oksigen dan senyawa reaktif yang

menyerang target di dalam kuman, yaitu sintesa asam mikolat, metabolisme DNA dan mungkin juga merusak DNA. Akibatnya kuman mudah lisis. (6,17)

Akibat –akibat terjadinya resistensi yaitu:

- Kesalahan pengelohan OAT
- Kesalahan manajemen kasus TB
- Kesalahan penyampaian OAT kepada pasien
- Kesalahan hasil uji DST
- Kesalahan OAT dengan mutu rendah.

II.12. Mekanisme Resistensi Isoniazid (INH)

Pada Mtb belum pernah dilaporkan adanya plasmid pembawa resistensi, karena itu resistensi Mtb terhadap OAT tidak dipindahkan dari satu kuman ke kuman lain. Dengan kata lain, terjadinya resistensi Mtb terhadap OAT terutama terjadi karena mutasi genetik pada Mtb sendiri, dan mutasi ini terjadi secara alami, tidak dibawah tekanan OAT. Penyebaran resistensi Mtb terjadi pasca amplifikasi kuman resisten sebagai akibat inadekuatnya obat disekitar kuman. (3,4,5)

Mekanisme kerja INH efek utamanya ialah menghambat biosintesis asam mikolat (mycolic acid) yang merupakan unsur penting dinding sel *mikobakterium tuberculosis*. Isoniazid menghilangkan sifat tahan asam dan menurunkan jumlah lemak yang terekstrasi oleh metanol dari *Mycobacterium tuberculosis*. (6,16) Resistensi Mtb terhadap INH akibat hilangnya gen *katG* akan mengakibatkan resistensi tingkat tinggi. Frekuensi kuman resisten terhadap INH akibat dari mutasi gen *katG* bervariasi pada daerah S315T

merupakan yang tersering, teramati pada kira-kira 50% isolat. Mutasi pada S315T ini menyebabkan aktifitas katalase berkurang 50% dan karena itu tingkat resistensi yang ditimbulkan cukup tinggi. Resistensi terhadap INH juga dipengaruhi oleh mutasi pada gen *Inh A*, *ndh* dan *ahpC*. (6,15,16)

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini bersifat observasional menggunakan desain *Cross Sectional*. Dalam penelitian kesehatan, studi cross sectional merupakan salah satu bentuk studi observasional (non eksperimental) yang sering dilakukan. Dalam arti kata luas, studi cross-sectional mencakup semua jenis penelitian yang pengukuran variabel-variabelnya dilakukan hanya satu kali, pada satu saat. Studi seperti ini dapat semata-mata bersifat deskriptif, misalnya penentuan nilai normal.

III.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat pengambilan sampel penelitian ini direncanakan dilakukan di Balai Besar Kesehatan Paru Makassar untuk selanjutnya akan dilakukan penelitian di Laboratorium Imunologi dan Biomolekuler bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada bulan Agustus – Oktober 2011.

III.3 Populasi dan sampel

Populasi penelitian ini adalah pasien penderita tuberkulosis yang memeriksakan diri di Balai Besar Kesehatan Paru Makassar (BBKPM).

III.4 Sampel Penelitian

Sampel penelitian berupa sputum yang jumlahnya berdasarkan rumus

Simple Random Sampling:

$$n = \frac{Z\alpha^2 PQ}{d^2}$$

Keterangan

1. $Z\alpha$ = deviat baku normal untuk tingkat kemaknaan, α (ditetapkan). Nilai α ini dipilih sesuai dengan IK yang diinginkan. Bila IK 95 %, maka $\alpha = 0,05$, sehingga $Z\alpha = 1,96$
2. P = proporsi penyakit atau keadaan yang akan dicari. Nilai P dihitung dari data:
 - a) Jumlah pasien TB di BBKPM Makassar = ± 2980/tahun
 - b) Jumlah sampel Smear BTA positif sekitar 10% - 15 % = 373
 - c) $nilai P = \frac{jumlah\ sampel\ pengecatan\ BTA\ positif}{jumlah\ total\ pasien\ TB} = \frac{373}{2980}$
 $= 0,125$
3. $Q = 1-P (1-0,125) = 0,875$
4. d = tingkat ketepatan absolut yang dikehendaki, d (ditetapkan)
5. n = besar sampel

$$nilai n = \frac{(1,96)^2(0,125)(0,875)}{(0,1)^2}$$

$$= 42,0175$$

Sampel dibulatkan menjadi 42 sampel

III.5 Kriteria Sampel Penelitian

III.5.1 Kriteria Inklusi

1. Pasien berusia minimal 15 tahun yang memeriksakan diri di Balai Besar Kesehatan Paru Makassar (BBKPM) dengan gejala klinis tuberkulosis.
2. Sampel yang dinyatakan positif tuberkulosis dengan hasil smear Basil tahan asam positif.

III.5.2 Kriteria Eksklusi

Pasien yang telah mendapatkan pengobatan anti tuberkulosis.

III.6 Definisi Operasional

- a. Tuberculosis (TB) adalah salah satu jenis penyakit menular yang disebabkan oleh bakteri *mycobacterium tuberculosis*
- b. *Mycobacterium tuberculosis* adalah bakteri basil tahan asam bersifat aerob yang menginfeksi saluran pernapasan manusia.
- c. Tes kultur medium bilayer adalah tes kultur yang menumbuhkan *mycobacterium tuberculosis* yang merupakan kombinasi atau perpaduan antara medium LJ dan medium middlebrook 7H9
- d. Isoniazid adalah obat aktif terhadap *mycobacterium tuberculosis* yang tumbuh dan juga aktif terhadap *mycobacterium tuberculosis* dalam fase stasioner. Isoniazid secara in vitro bersifat tuberkulostatik (menahan perkembangan bakteri) dan tuberkulosid (membunuh bakteri).

- e. Spesifisitas adalah seberapa baik suatu tes mendeteksi penyakit tanpa melewatkan beberapa individu berpenyakit yang salah klasifikasi sebagai individu sehat
- f. spesifisitas adalah seberapa baik suatu tes dalam mendeteksi hanya individu yang berpenyakit dibanding salah mengelompokkan beberapa orang sehat sebagai individu berpenyakit

III.7 Alat dan Bahan Penelitian

III.7.1 Alat penelitian

Alat - alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroskop cahaya (*Nikon*), autoklaf (*Sanyo*), vortex (*Heidolph*), Bio safety Cabinet (*ESCO class II Type A2*), neraca analitik (*Kemew*), sentrifugasi (*Sorvall Legend*), magnetic stirer, inkubator (*Memmert*), plate well, mikropipet (*Bio-Rad*) 20 μ l dan 100 μ l, tabung eppendorf.

III.7.2 Bahan penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah sampel sputum penderita tuberculosis, medium bilayer, larutan dekontaminasi (NaOH 4%, sodium citrat 2,94%, N.acetyl.L.cystein) Phosphat Buffer Saline (PBS), air suling steril , Isoniazid.

III.8 Prosedur Kerja

III.8.1 Dekontaminasi Sampel

III.8.1.1 Persiapan Reagen Dekontaminasi

Reagen dekontaminasi terdiri dari 25 ml NaOH 4%, 25 ml sodium sitrat 2,94%, dan 0,25 g NALC. Larutan NaOH (20 g NaOH dalam 500 mL air suling) ditambahkan dengan larutan Natrium Sitrat (14,5 g natrium sitrat dalam 500 mL air suling). Setelah di homogenkan, larutan tersebut di sterilkan dalam otoklaf pada suhu 121⁰C selama 20 menit, kemudian di ambil larutan tersebut sebanyak 50 ml dan dimasukkan ke dalam botol 100 ml yang berisi 0,24 g NALC.

Phosphat Buffer Saline (PBS) 0,067 m, pH 6,8 dibuat dengan menyediakan buffer alkali (Na_2PO_4) sebanyak 9,47 g dalam 1000 ml aquades steril, dan buffer asam (KH_2PO_4) sebanyak 9,07 g dalam 1000 ml air suling sehingga didapatkan volume akhir 2000 ml. setelah kedua larutan homogen , pH larutan diukur hingga mencapai 6,8.

III.8.1.2 Dekontaminasi Sputum

Sebelum dilakukan proses dekontaminasi, terlebih dahulu disediakan larutan NALC dan PBS

Sebanyak ± 2 mL sampel dipindahkan dari wadahnya ke dalam tabung berukuran 50 mL dengan menggunakan pipet transfer, pemindahannya dilakukan secara aseptis di dalam *Bio Safety Cabinet* (BSC) untuk menghindari kontaminasi. Kemudian larutan dekontaminasi ditambahkan kedalam tabung yang telah bersisi sampel dengan perbandingan antara

sputum dan larutan dekontaminasi yaitu 1:1. Tabung dihomogenkan dengan alat vortex selama tidak lebih dari 30 menit, setelah itu didiamkan 15 menit di dalam BSC untuk mendekontaminasi spesimen tersebut.

Kemudian ditambahkan larutan fosfat buffer 0,067 M pH 6,8 sampai volumenya mencapai 50 ml, selanjutnya sampel disentrifugasi dengan kecepatan 3000 xg selama 15 menit. Dari hasil sentrifugasi diperoleh supernatan dan sedimen, supernatannya dibuang. Kemudian ditambahkan 1-2 ml larutan fosfat buffer 0,067 M pH 6,8 ke dalam sedimen dengan menggunakan pipet transfer dan dihomogenkan dengan menggunakan vortex.

II.8.1.3 Smear dengan Pewarnaan Ziehl-Neelsen

Sampel hasil dekontaminasi diambil sebanyak 100 µl dengan menggunakan mikropipet dibuat preparat, kemudian difiksasi pada hotplate selama 3 jam. Selanjutnya dituangkan karbol fuchsin 1% sampai menutupi seluruh permukaan sediaan apusan kemudian dipanaskan sampai keluar uap selama 3 – 5 menit. Selanjutnya dicuci dengan air mengalir dan dituangkan alkohol asam 3% sampai warna merah dari fuchsin hilang kemudian dicuci dengan air mengalir, dan dituangkan metilen biru 0,3% hingga menutupi seluruh permukaan dan didiamkan selama 10 – 20 detik, lalu dicuci kembali dengan air mengalir kemudian dikeringkan. Sediaan siap untuk dibaca di bawah mikroskop.

III.8.2 cara pembuatan medium

III.8.2.1 cara pembuatan medium LJ (Lowenstein - Jensen)

Komposisi dari medium LJ yaitu potassium dihydrogen phosphate ditimbang sebanyak 1,04 gram, magnesium sulphate 0,1 gram, magnesium citrate 0,25 gram, asparagines 1,5 gram, gliserol 5 ml, aquades steril 250 ml dan telur ayam (5-7 tergantung ukuran) sampai dengan 500 ml.

Medium LJ dibuat dengan menggunakan telur. Sebelum digunakan telur dibersihkan terlebih dahulu dengan cara dicuci dan disikat menggunakan air dan sabun. Kemudian dibilas dengan air mengalir hingga bersih dan dikeringkan. Telur yang sudah dibersihkan direndam dalam alkohol 70% selama 15 menit untuk di sterilkan. Kemudian telur dipecahkan dan dimasukkan ke dalam gelas ukur dengan 200 ml.

Komposisi medium LJ yang telah ditimbang dilarutkan dalam 250 ml aquades steril, ditambahkan 5 ml gliserol. Setelah tercampur sempurna, disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan pH 6. Didinginkan sampai suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$, dan ditambahkan telur 200 ml yang telah dipersiapkan secara steril dengan cara dicampurkan secara perlahan-lahan dan dihomogenkan dengan Hot plate stirrer dan Stirrer bar (magnetic stirrer). Setelah homogen kemudian disaring dengan saringan steril yang telah diberi kasa steril. Selanjutnya dituangkan ke dalam botol Mc Cartney steril sebanyak 6 – 8 ml, ditutup secara rapat dan diletakkan dengan kemiringan 30° dalam inkubator yang telah dipanaskan sampai suhu 85°C dan

dikoagulasikan selama 45 menit, kemudian dikeluarkan dari inspikator dan didiamkan sampai suhu kamar.

III.8.2.2 Cara Pembuatan Middle Brook 7H9

Bubuk Middle Brook di timbang sebanyak 4,7 g di tambahkan 900 ml air suling, di tambahkan 2 ml gliserol dan agar, kemudian di panaskan dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit dengan pH 6,8 suhu diturunkan pada suhu 45°C, ditambahkan 10 ml triphenyltetrazolium cholride dan yang terakhir di tambahkan 100 ml OADC dan 3 ml PANTA.

III.8.2.3 Cara pembuatan konsentrasi INH

INH ditimbang 1 mg dan dimasukkan ke dalam labu kimia lalu ditambahkan air suling steril 100 ml dan dihomogenkan. Konsentrasi larutan INH I yang di peroleh 10.000 $\mu\text{m}/\text{ml}$. larutan diencerkan lagi dengan penambahan 1 ml larutan I ditambahkan 9 ml air suling dan dihomogenkan . konsentrasi larutan INH II diperoleh 1.000 $\mu\text{m}/\text{ml}$. larutan diencerkan lagi dengan penambahan 1 ml larutan II ditambahkan 9 ml air suling dan dihomogenkan. Konsentrasi larutan INH III diperoleh 100 $\mu\text{m}/\text{ml}$. larutan diencerkan lagi dengan penambahan 2 ml larutan III ditambahkan 8 ml air suling dan dihomogenkan. konsentrasi larutan INH IV diperoleh 20 $\mu\text{m}/\text{ml}$. konsentrasi 20 $\mu\text{m}/\text{ml}$ digunakan untuk metode LJ.

III.8.2.4 DST (Drug Susceptible Test) pada LJ (Lowenstein - Jensen)

INH dengan konsentrasi 20 µm/ml dicampur dengan medium LJ kemudian dibagi masing - masing 5 ml ke dalam cryotube, kemudian disimpan pada inkubator selama 45 menit pada suhu 85⁰C pada posisi miring setelah itu inkubator dikembalikan pada suhu 37⁰C. keesokan harinya inkubator kembali dinaikan suhunya 85⁰C selama 45 menit setelah itu dikembalikan pada suhu 37⁰C. setelah medium siap, selanjutnya 10 µl bakteri ditanam pada medium kemudian simpan pada inkubator selama 28 hari diamati perkembangannya.

III.8.3 Kultur

III.8.3.1 Kultur Pada Medium Bilayer

Medium bilayer merupakan perpaduan antara medium LJ dan medium MiddleBrook 7H9. Pada bagian dasar botol dituangkan medium LJ kemudian dipadatkan dalam posisi kemiringan 30°. Selanjutnya pada bagian atas tabung dimasukkan 4 ml Middlebrook 7H9 yang telah ditambahkan agar, kemudian ditutup rapat dan didiamkan dengan kemiringan 30° hingga medium menjadi padat. Sebelum digunakan media tersebut terlebih dahulu di inkubasi pada suhu 48⁰C.

Spesimen hasil dekontaminasi dipipet sebanyak 20 µl dan di teteskan pada permukaan medium bilayer, kemudian diratakan ke seluruh permukaan media. Selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37⁰C dengan pH 6,8. Pengamatan pertama dilakukan pada hari ke 3 pasca inokulasi hingga hari ke 16.



III.8.3.2 Kultur Pada Medium Cair MGIT

Tabung MGIT terlebih dahulu ditambahkan 100 µl PANTA (*Polymyxin Amphotericin Nalidixic acid Trimethoprim Azlocilin*) dan 500 µl OADC (*Oleic acid Albumin Dextrose Catalase*), kemudian dimasukkan 20 µl spesimen hasil dekontaminsi. Selanjutnya diinkubasi pada 37°C dengan pH 6,8 selama ± 42 hari. Pengamatan pertama dimulai pada hari ketiga pasca inokulasi. Pembacaan dilakukan dengan menggunakan *MGIT READER*.

III.9 Persiapan Inokulum Untuk Uji Obat

III.9.1 Pada medium bilayer

Medium Middlebrook 7H9 dimasukkan sebanyak 4 mL ke dalam tabung steril yang telah berisi 8-10 *glass bead* lalu dimasukkan koloni bakteri dari medium LJ (15 hari pertumbuhan) yang diambil dengan menggunakan ose terkalibrasi. Tutup rapat tabung, divortex 1-2 menit untuk memisahkan gumpalan koloni. Kekeruhan suspensi harus diukur lebih besar dari 1,0 McFarland. Konsentrasi McFarland dibuat dengan mencampurkan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,9 ml dan BaCl₂ sebanyak 0,1 ml lalu ditambahkan 500 µl inokulum. Suspensinya didiamkan selama 20 menit, dipindahkan supernatannya dengan menggunakan pipet ke dalam tabung steril baru, dan didiamkan selama 10 menit, kemudian dipindahkan supernatan dengan pipet steril ke tabung steril yang lain. Kekeruhan suspensi harus lebih besar dari 0,5 McFarland. Kekeruhan suspensi dibuat menjadi 0,5 McFarland dengan menambahkan larutan Phosphat Buffer Saline (PBS). Membuat pengenceran suspensi 1 : 10 dengan menambahkan 1 ml suspensi bakteri ke dalam 9 ml

Phosphat Buffer Saline (PBS). Pengenceran inokulum siap untuk dilakukan pengujian terhadap obat.

III.9.2. pada medium MGIT (*Mycobacteria Griwth Indicator Tube*)

Setelah dilakukan persiapan inokulum untuk uji obat, selanjutnya membuat pengenceran suspensi 1 : 5 dengan menambahkan 1 ml suspensi bakteri ke dalam 4 ml PBS/aquadest steril yang kemudian dimasukkan kedalam tabung MGIT. Lalu pada tabung MGIT ditambahkan OADC 500 ml dan ditambahkan lagi Antibiotik 100 ml. Untuk kontrol pada tabung MGIT ditambahkan OADC 500 ml dan H₂O 100 ml. Kemudian tabung diinkubasi pada suhu 37⁰C dan dilakukan pembacaan tabung setiap hari, dimulai hari ke-2 dan dinyatakan negatif pada hari ke-12 tanpa pertumbuhan. Pembacaan Tabung MGIT yaitu, diambil tabung dari inkubator dan diletakkan pada lampu UV yang bersebelahan dengan kontrol positif dan negatif. Kemudian ditandai tabung MGIT yang berfluorosensi sangat terang (warna orange terang) dan kontrol negatif sangat sedikit atau tanpa fluorosensi sama sekali. Jika tabung MGIT lebih mirip dengan kontrol positif, maka tabung tersebut adalah positif. Jika lebih mirip dengan kontrol negatif, maka tabung tersebut adalah negatif. Pertumbuhan juga bisa diamati dengan adanya kekeruhan yang homogen, butiran atau lempengan kecil dalam medium kultur.

III.11 Analisis Data

Analisis data yang diteliti yaitu adanya mycobacterium yang resisten terhadap isoniazid .

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

Telah dilakukan penelitian dengan mendeteksi resistensi *Mycobacterium tuberculosis* terhadap isoniazid (INH) dengan medium bilayer dari pasien tuberculosis paru di Makassar menggunakan sampel sputum pada pasien tuberculosis smear BTA positif di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada bulan Agustus – Oktober 2012 dengan jumlah sampel sebanyak 42 sampel.

Untuk mengetahui resisten pada *Mycobacterium tuberculosis* terhadap isoniazid (INH) dengan medium bilayer, maka dapat di lihat pada tabel dibawah ini:

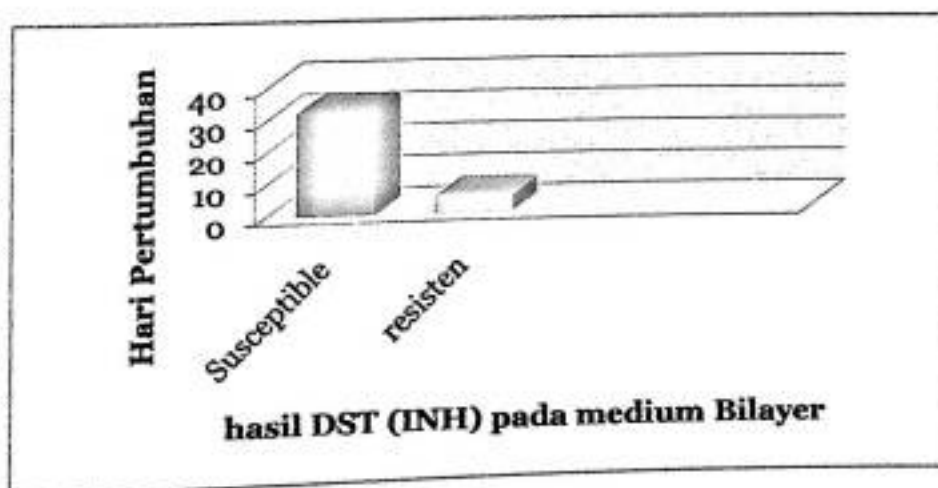
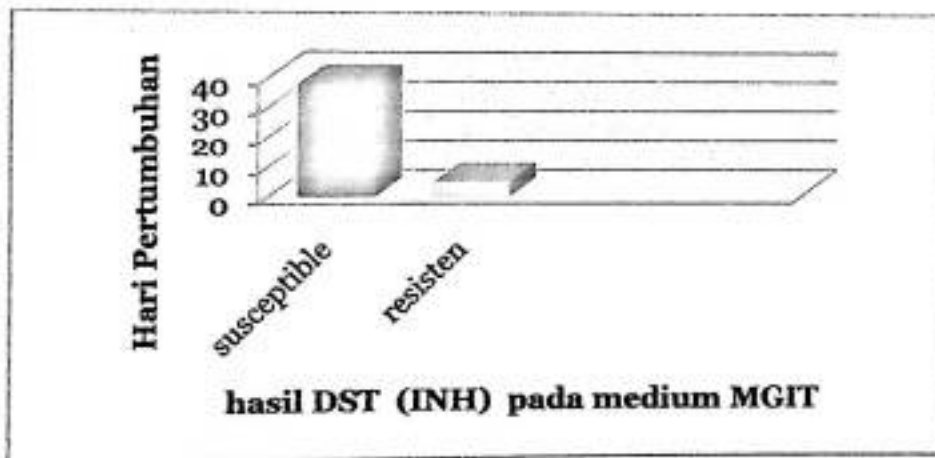
Tabel 1. Tabel hasil dari medium Bilayer dan MGIT

MGIT	Bilayer		Total %
	Resisten (%)	Susceptible (%)	
Resisten	6 (14,3%)	0 (0%)	6 (14,3%)
Susceptible	2 (4,7%)	34 (81%)	36 (85,7%)
Total	8 (19%)	34 (81%)	42 (100%)

Tabel diatas memperlihatkan, hasil Resisten pada Bilayer dan MGIT sebanyak 6 (14,3%) sampel dan Susceptible pada Bilayer dan resisten pada MGIT sebanyak 0 (0%) sampel dan hasil Susceptible pada MGIT dan Resisten pada Bilayer sebanyak 2 (4,7%) sampel. Hasil Susceptible Bilayer dan MGIT sebanyak 34 (81%) sampel.

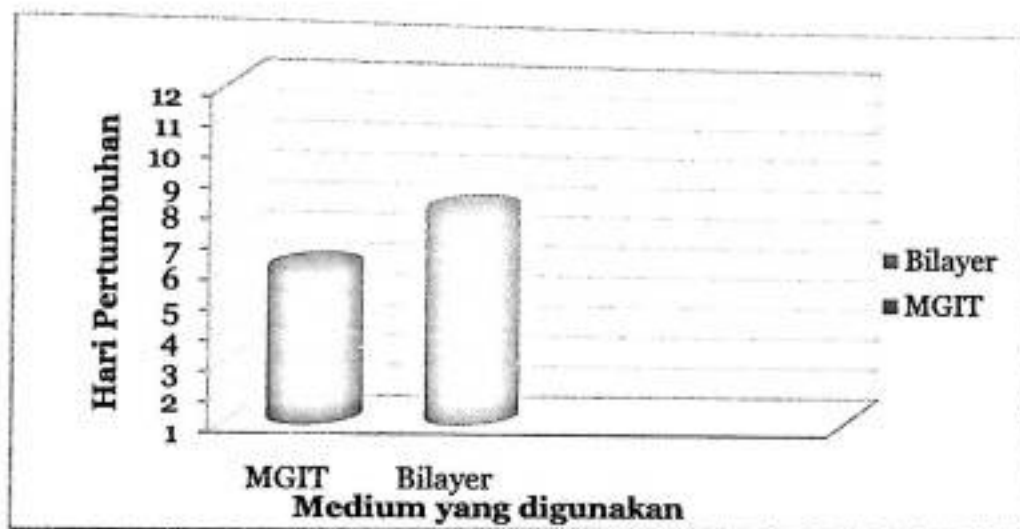
Tabel 2. Tabel hasil DST yang resisten pada medium Bilayer dan MGIT:

No	Kode Sampel	MGIT Media		Bilayer Media	
		DST (INH)	Hari Positif	DST (INH)	Hari Positif
1	B 010	Resisten	6	Resisten	8
2	B 011	Resisten	6	Resisten	8
3	B 012	Resisten	7	Resisten	8
4	B 021	Resisten	5	Resisten	7
5	B 026	Resisten	5	Resisten	7
6	B 027	Resisten	7	Resisten	10
total			36		48
Rata-rata			6		8



Gambar 3. Grafik keseluruhan dari hasil susceptible dan resisten pada medium bilayer dan MGIT.

Dari tabel tersebut didapatkan hasil Resistensi pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* pada medium Bilayer dan MGIT sebanyak 6 sampel. Untuk hasil keseluruhan 42 sampel penelitian dapat dilihat pada lampiran III.



gambar 4 : Grafik distribusi pada medium bilayer dan MGIT.

Dari gambar diatas diketahui bahwa pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* pada medium MGIT sudah dapat diperoleh pada hari ke 6 sedangkan pada medium Bilayer pada hari ke 8.

IV.2. Pembahasan

Mycobacterium tuberculosis tumbuh lambat sehingga membutuhkan waktu yang cukup lama untuk mendapatkan hasil. Hal ini disebabkan karena pada dinding selnya mengandung komponen asam mikolat dan glikolipid yang berfungsi menghalangi masuknya zat kimia sehingga menyebabkan pertumbuhan yang sangat lambat.(16).

Ada beberapa metode pengujian untuk mendapatkan hasil uji kepekaan obat anti tuberculosis (OAT), metode yang paling sering digunakan saat ini adalah metode proporsi berupa pengujian dengan menggunakan medium Lowenstein Jensen (LJ) yang diberikan OAT dalam konsentrasi telah terproporsi. Dalam prosesnya, metode ini membutuhkan waktu yang lama yaitu 4 – 8 minggu untuk mendapatkan hasil (6).

Untuk pemeriksaan tuberculosis, perlu dikembangkan suatu metode dengan biaya rendah, cepat dan aman untuk mendeteksi penyakit tuberculosis, diantaranya dengan medium Bilayer yang merupakan kombinasi antara medium padat (LJ) dan medium cair (Middle Brook 7H9). Bakteri akan tumbuh pada medium Middle Brook dan medium LJ sebagai penompang dan mengeliminasi dekontaminan. Dimana dengan menggunakan metode bilayer dapat memberikan hasil uji sensitivitas OAT yang cepat dan tepat dengan biaya yang relatif lebih murah. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendeteksi bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang resisten terhadap isoniazid dengan metode medium bilayer. (19,21)

Pada medium Bilayer bakteri sudah terlihat pertumbuhannya pada hari ke ketiga. Hal ini disebabkan karena pada medium Bilayer gabungan dari 2 medium yaitu LJ yang mengandung garam tertentu (Magnesium sulphate ($MgSO_4$) dan Magnesium citrate), gliserol yang mempunyai fungsi utama pada medium sebagai mempercepat pembentukan ATP

bakteri, substansi organik kompleks (telur yang berfungsi untuk merangsang pertumbuhan, asparagin yang berfungsi sebagai sumber nitrogen dan karbon bagi pertumbuhan *Mycobacterium* dan bahan-bahan lain dengan komposisi yang bervariasi) yang mana kandungan ini sangat dibutuhkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* untuk tumbuh dan Middlebrook 7H9 yang diperkaya dengan OADC (*Oleic acid* – digunakan oleh *Bacillus tuberculosa*), (*Albumin* – mengikat asam lemak bebas), (*Dextrose* – sumber energi), (*Katalase* - menghancurkan peroksida yang bersifat racun) dan PANTA (*Polymyxin B* – untuk menghambat bakteri gram negatif batang), (*Amphotericin B* – untuk menghambat fungi), (*Nalidixic acid* – untuk menghambat bakteri gram negatif), (*Trimethoprim* – untuk menghambat bakteri aerob), (*Azlocilin* – untuk menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa*). Dan juga pada medium Bilayer tidak ditambahkan malachite green yang mempunyai fungsi sebagai menghambat bakteri lain.(9)

Pada setiap medium ini diberikan diberikan antibiotik isoniazid untuk menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* sehingga jika masih didapatkan pertumbuhan bakteri pada kedua medium yang digunakan maka dinyatakan bahwa *Mycobacterium tuberculosis* pada sampel tersebut resisten atau tahan terhadap isoniazid.

Berdasarkan perhitungan pada lampiran 3, medium Bilayer memiliki sensitivitas 75%, spesifisitas 100%, NPP 100% dan NPN 94%. Medium

Bilayer yang memiliki sensitivitas 75% berarti medium ini dapat tepat mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* yang resisten terhadap isoniazid (INH) dalam sebuah sampel penderita TB hingga 75%, sedangkan spesifisitas 100% berarti medium Bilayer mampu mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* yang tidak resisten (sensitif) terhadap isoniazid (INH) pada sampel bukan penderita TB hingga 100%.

Nilai Prediksi Positif (NPP) menunjukkan besar kemungkinan individu berpenyakit tersebut, sedangkan Nilai Prediksi Negatif (NPN) mencerminkan kemungkinan individu bebas dari penyakit tersebut. Metode Bilayer memiliki NPP 100% berarti *Mycobacterium tuberculosis* pada sampel yang diperiksa memiliki kemungkinan 100% resisten terhadap isoniazid (INH) bila hasil ujinya positif sedangkan NPN 94% berarti *Mycobacterium tuberculosis* pada sampel yang diperiksa memiliki kemungkinan 94% tidak resisten (sensitif) terhadap isoniazid (INH) bila hasilnya negatif.

Pada medium Bilayer, diberikan antibiotik isoniazid (INH) untuk menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* sehingga jika masih didapatkan pertumbuhan bakteri pada medium yang digunakan maka dinyatakan bahwa *Mycobacterium tuberculosis* pada sampel tersebut resisten atau tahan terhadap isoniazid (INH). Dari segi biaya yang diperlukan, pemeriksaan kultur dengan medium Bilayer adalah sekitar Rp 9.000,- per sampel, Sedangkan untuk metode MGIT biaya yang di perlukan adalah Rp 25.000,- per sampel. Dari perincian tersebut, biaya

yang diperlukan untuk kultur Bilayer jauh berbeda dengan biaya untuk kultur metode MGIT. Perlu mendapat perhatian bahwa harga kultur Bilayer yang relatif lebih murah untuk mendapatkan hasil yang cepat dibandingkan dengan kultur metode lainnya.

Hal ini berarti bahwa medium Bilayer cocok dan layak untuk digunakan sebagai metode baru dalam menegakkan diagnosis tuberkulosis melalui kultur bakteri, terutama sebagai pengganti metode yang membutuhkan biaya yang mahal dan pengerjaan yang rumit dengan memerlukan proses peralatan yang banyak sehingga mengurangi kepraktisan dalam penggunaannya dibandingkan dengan medium Bilayer yang lebih mudah, cepat, murah dan akurat.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1. Kesimpulan

1. Pada Metode Bilayer Positif terjadi resistensi dengan menggunakan Isoniazid (INH).
2. Hasil uji kepekaan Isoniazid (INH) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* menggunakan metode Bilayer memiliki nilai sensitivitas 75 %, spesifisitas 100 %, NPP 100 % dan NPN 94 %.

V.2. Saran

Metode bilayer dapat direkomendasikan sebagai metode alternatif untuk uji kepekaan Isoniazid (INH) karena pengerjaannya relatif lebih murah untuk mendapatkan hasil yang cepat serta perlu dilakukan *Minimal Inhibition Concentration* (MIC) OAT lini pertama penyakit TB menggunakan metode Bilayer agar penderita TB dapat diberikan konsentrasi obat yang tepat untuk pengobatannya.

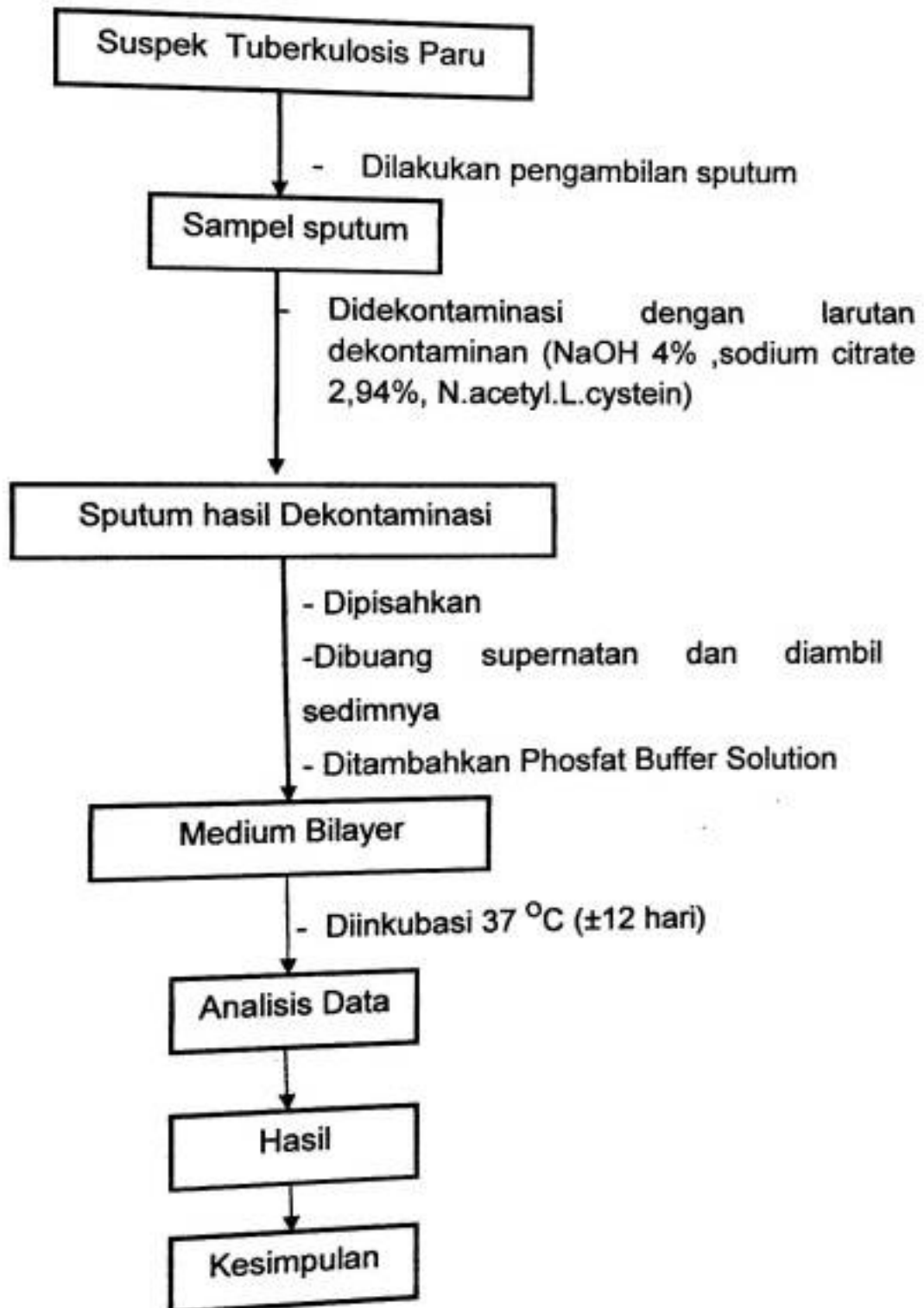
DAFTAR PUSTAKA

1. Brooks, G.F., Butel, J.S., & Morse, S.A. 2005. Mikrobiologi kedokteran. Edisi 1. Penerjemah Bagian Mikrobiologi Kedokteran Universitas Airlangga. Penerbit Salemba Medika. Hal 453-356.
2. DEPKES RI. *Pedoman Nasional Penanggulangan Tuberculosis*. Ed.2. Jakarta. 2007. Hal 6 & 17.
3. Bhattacharya, S., Roy, R., Chowdhury, N.R., Dasgupta, A., & Dastidar, S.G. Comparison of a novel Bilayered Medium With the Conventional Media for Cultivation of Mycobacterium Tuberculosis. *Indian J Med Res* 130, November 2009, pp 561-566.
4. Sandjaja, B. 1992. *Isolasi Dan Identifikasi Mikobakteria*. Penerbit widya medika. Jayapura. Hal. 85 – 97.
5. Sjahrurachman, A. 2008. *Kultur Dan Uji Kepekaan Mycobacterium Tuberculosis Terhadap Obat Anti Tuberculosis lini Pertama*. Modul Departemen Kesehatan . Hal 6 – 8.
6. Thoen, C.O., Himes, E.M., Jarnagin, J.L., & Harrington, R. Comparison of Four Culture Media for Isolation of Mycobacterium avium Complex from Porcine Tissues. *Journal Of Clinical Microbiology*, Feb. 1979, p. 194-196.
7. Grandjean, L., Martin, L., Gilman, R.H., Valencia, T., Herrera, B., Quino, W., Ramos, E., Rivero, M., Montoya, R., Escombe, A.R., Coleman, D., Mitchison, D., & Evans, C.A. Tuberculosis Diagnosis and Multidrug Resistance Testing by Direct Sputum Culture in Selective Broth without Decontamination or Centrifugation. *Journal of Clinical Microbiology*, July 2008, p. 2339–2344.
8. Lemus, D., Martin, A., Montoro, E., Portael, F., & Palomino J.C. Rapid Alternative Methods for Detection of Rifampicin Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2004 54(4).pp. 130-133.
9. Soto, A., Agapito, J., Villaordun˜a, C.A., Solari, L., Samalvides, F., & Gotuzzo, E. Evaluation of the performance of two liquid-phase culture media for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in a national hospital in Lima, Peru. *International Journal of Infectious Diseases* (2009).
10. Hudoyo, A. *Tuberkulosis Mudah Diobati*. Balai Penerbit FKUI: Jakarta. 2008.

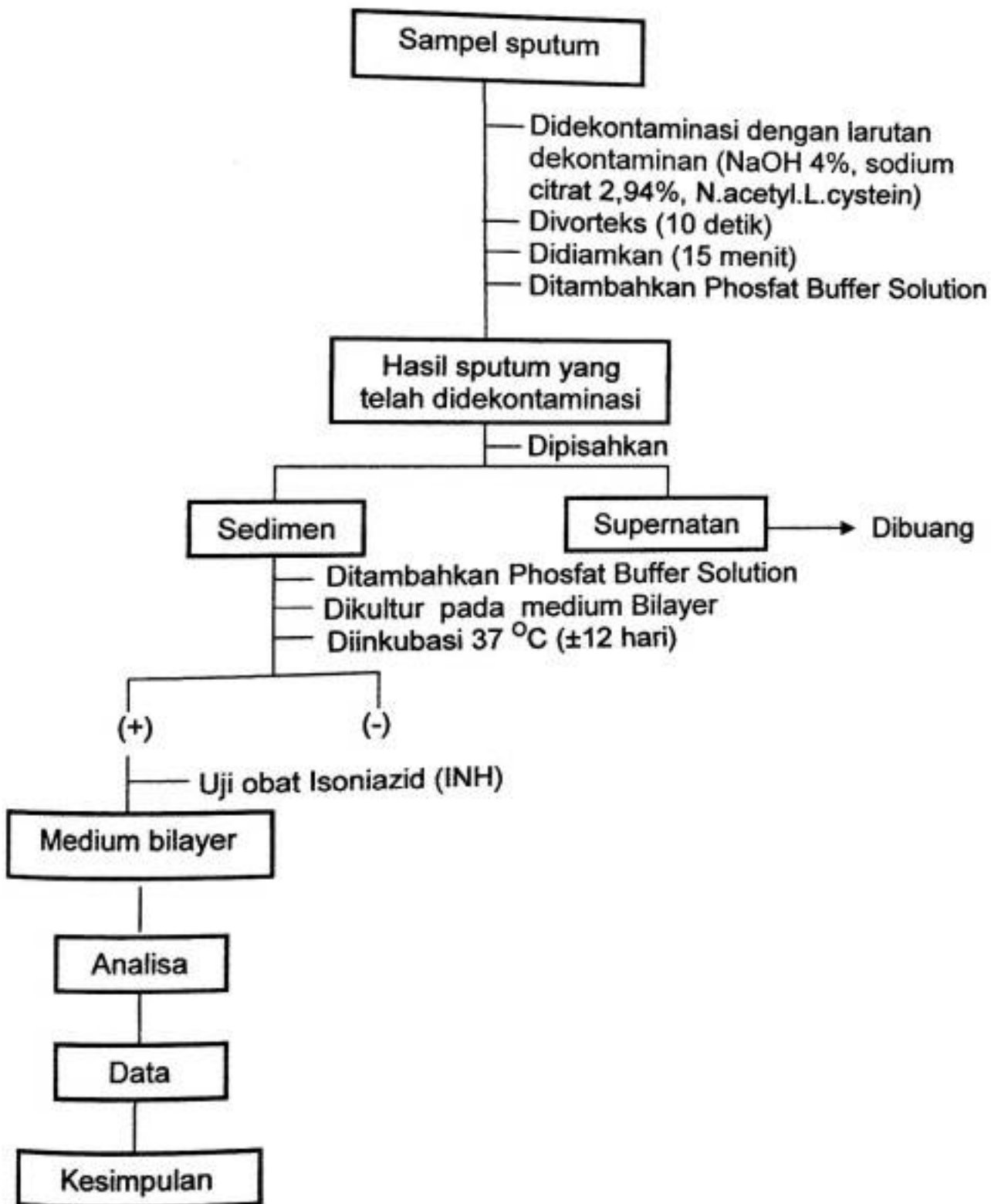
11. Gillespie S & Bamford K. *At a Glance Mikrobiologi Medis dan Infeksi*. Ed.3. Jakarta; Erlangga; 2009.
12. DEPKES RI. *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Tuberkulosis*. Jakarta. 2005. Hal 12 & 13
13. Chamberlain, N. *Medical Microbiology*. Mcgraw-Hill. 2006. p.124. Available as PDF file
14. Aditama & Yoga, T. *Tuberkulosis Paru; Masalah dan Penanggulangannya*. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press): Jakarta. 1994
15. Crofton, J. *Tuberkulosis Klinis (Clinical Tuberculosis)*. Ed 2. Penerbit Widya Medika. Jakarta
16. Jawelz, Melnick & Adeberg. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23*. Penerbit Buku Kedokteran: Jakarta. 2008. hal 325-336
17. Ryan, K & Ray, C. *Mycobacterium tuberculosis*. Sheris Medical Microbiology. Mc Graw Hill. 2004. Available from: http://id.wikipedia.org/wiki/Mycobacterium_tuberculosis di download tanggal 3 Januari 2011.
18. Syahrurachman, A. *Modul Kultur dan Uji Kepekaan M. Tuberculosis Terhadap Obat Anti Tuberculosis Lini Pertama*. Departemen Kesehatan RI. 2008.
19. Bunga A. *Penyakit tuberculosis*. Available from: <http://www.scribd.com/doc/39601037/Penyakit-Tuberkulosis> diakses tanggal 18 April 2011.
20. PPDS I Departemen Pulmonologi dan Ilmu Kedokteran Respirasi Fakultas Kedokteran UI. *Jurnal Tuberkulosis Indonesia, Vol 5 Extensively Drug-Resistant Tuberculosis (XDR-TB)*. Jakarta. 2007. hal 19-22
21. Kaufmann & Hann. *Mycobacteria and TB*. Berlin. 2003. p.73-74. Available as PDF file
22. Tuberkulosis - Diagnosis dan Terapi Tuberculosis [http ://www.exomedindonesia.com/r eferensi- kedokteran / artikel-ilmiah - kedokteran / pulmonologi - ilmu-penyakit-dalam/2010/10/12/tuberkulosis-diagnosis-dan-terapi/](http://www.exomedindonesia.com/r eferensi- kedokteran / artikel-ilmiah - kedokteran / pulmonologi - ilmu-penyakit-dalam/2010/10/12/tuberkulosis-diagnosis-dan-terapi/), 2010, diakses 1 maret 2011.

LAMPIRAN I

SKEMA ALUR RENCANA PENELITIAN



LAMPIRAN II
SKEMA PROSEDUR KERJA





LAMPIRAN III

Hasil uji kepekaan isoniazid (INH) terhadap *M.tuberculosis* menggunakan medium Bilayer dan MGIT.

No	Kode Sampel	Medium MGIT		Medium Bilayer	
		DST (INH)	Hari Positif	DST (INH)	Hari Positif
1	B 001	Susceptible	6	Susceptible	8
2	B 002	Susceptible	6	Susceptible	8
3	B 003	Susceptible	6	Susceptible	8
4	B 004	Susceptible	6	Resisten	8
5	B 005	Susceptible	6	Susceptible	7
6	B 006	Susceptible	6	Susceptible	7
7	B 007	Susceptible	6	Susceptible	7
8	B 008	Susceptible	6	Susceptible	8
9	B 009	Susceptible	6	Susceptible	8
10	B 010	Resisten	6	Resisten	8
11	B 011	Resisten	6	Resisten	8
12	B 012	Resisten	7	Resisten	8
13	B 013	Susceptible	5	Resisten	8
14	B 014	Susceptible	8	Susceptible	10
15	B 015	Susceptible	6	Susceptible	7
16	B 016	Susceptible	6	Susceptible	8
17	B 017	Susceptible	6	Susceptible	8
18	B 018	Susceptible	6	Susceptible	7
19	B 019	Susceptible	6	Susceptible	8
20	B 020	Susceptible	6	Susceptible	8
21	B 021	Resisten	5	Resisten	7
22	B 022	Susceptible	6	Susceptible	6
23	B 023	Susceptible	6	Susceptible	8
24	B 024	Susceptible	7	Susceptible	8
25	B 025	Susceptible	5	Susceptible	6
26	B 026	Resisten	5	Resisten	7
27	B 027	Resisten	7	Resisten	10
28	B 028	Susceptible	5	Susceptible	6
29	B 029	Susceptible	6	Susceptible	6
30	B 030	Susceptible	5	Susceptible	6
31	B 031	Susceptible	7	Susceptible	8
32	B 032	Susceptible	7	Susceptible	8
33	B 033	Susceptible	6	Susceptible	8
34	B 034	Susceptible	6	Susceptible	8

Lanjutan tabel Hasil uji kepekaan isoniazid (INH) terhadap *M.tuberculosis* menggunakan medium Bilayer dan MGIT:

No	Kode Sampel	Medium MGIT		Medium Bilayer	
		DST (INH)	Hari Positif	DST (INH)	Hari Positif
35	B 035	Susceptible	6	Susceptible	8
36	B 036	Susceptible	6	Susceptible	8
37	B 037	Susceptible	6	Susceptible	8
38	B 038	Susceptible	8	Susceptible	10
49	B 049	Susceptible	8	Susceptible	10
40	B 040	Susceptible	8	Susceptible	7
41	B041	Susceptible	8	Susceptible	7
42	B042	Susceptible	7	Susceptible	10

LAMPIRAN IV

KOMPOSIS MEDIA YANG DIGUNAKAN

1. Medium Lowenstein-Jensen (medium LJ)

KH ₂ PO ₄	4 2,4 g
Magnesium sulphate (MgSO ₄)	0,24 g
Magnesium citrate	0,6 g
Asparagine	3,6 g
Gliserol	12 ml
Air suling steril	600 ml
Telur (20 -25 tergantung ukuran)	1000 ml
pH	6,8

2. Medium middlebrook 7H9

Monopotassium Phosphate	1.5 g
Ammonium Sulfate (NH ₄ 2SO ₄)	0.5 g
MSG. natrium glutamad	0.5 g
Sodium Citrate	0.4 g
Ferric Ammonium Citrate	0.04 g
Magnesium Sulfate	0.05 g
Copper Sulfate	0.001 g
Pyridoxine	0.001 g
Zinc Sulfate	0.001 g
Biotin	0005 g
Agar	13.5 g
pH	6,8

LAMPIRAN V

Perhitungan Hasil Uji Sensitivitas dan Spesifisitas Medium Bilayer dan MGIT

MGIT	Bilayer		Total (%)
	Resisten (%)	Susceptible (%)	
Resisten	6 (14,3%)	0 (0%)	6 (14,3%)
Susceptible	2 (4,7%)	34 (81%)	36 (85,7%)
Total	8 (19%)	34 (81%)	42 (100%)

$$\text{Sensitivitas} = \frac{A}{A+C} = \frac{6}{6+2} = 0,75$$

$$= 0,75 \times 100\% = 75\%$$

$$\text{Spesifisitas} = \frac{D}{D+B} = \frac{34}{34+0} = 1$$

$$= 1 \times 100\% = 100\%$$

$$\text{NPP} = \frac{A}{A+B} = \frac{6}{6+0} = 1$$

$$= 1 \times 100\% = 100\%$$

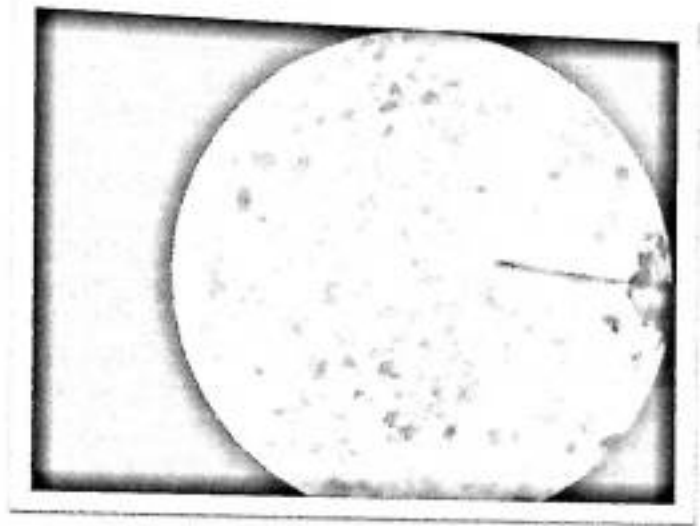
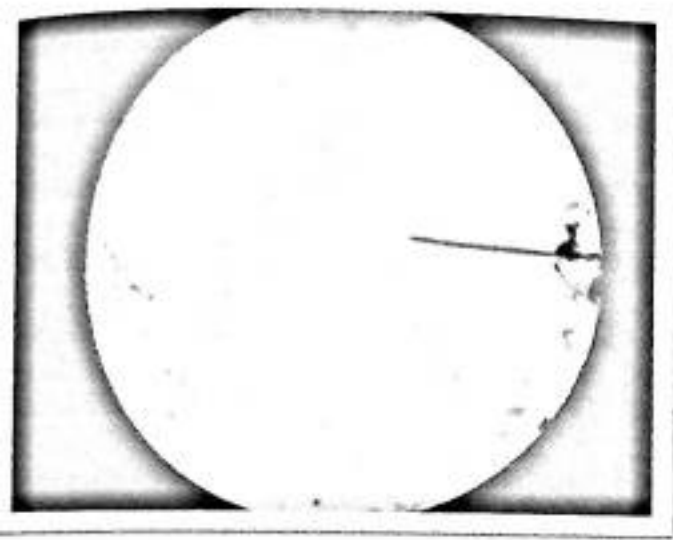
$$\text{NPN} = \frac{D}{C+D} = \frac{34}{34+2} = 0,94$$

$$= 0,94 \times 100\% = 94\%$$

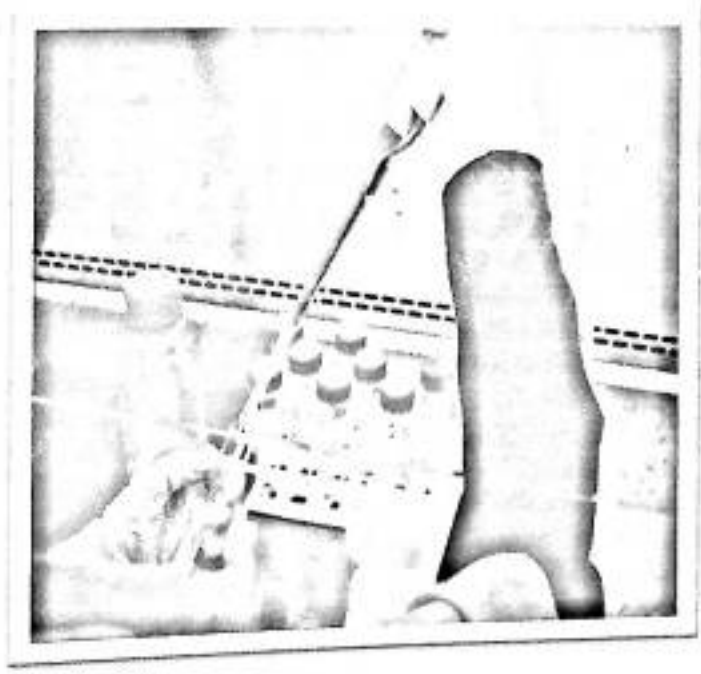
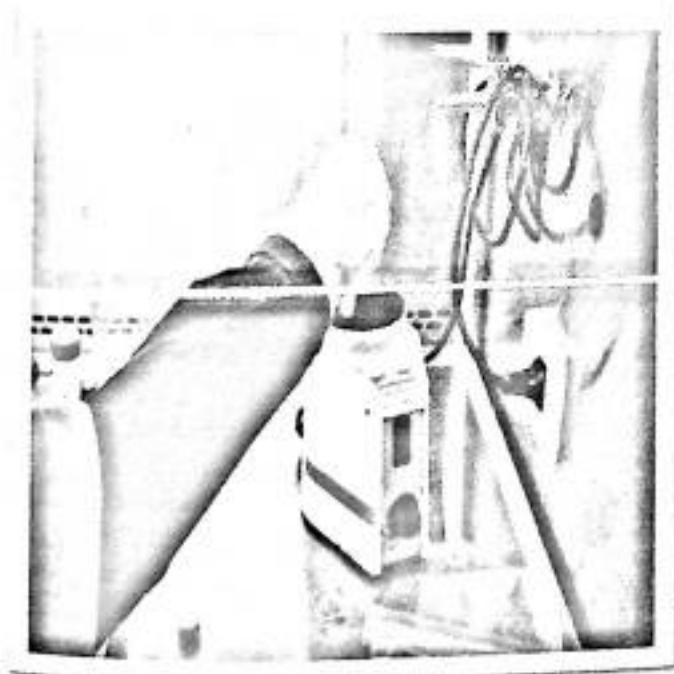
Keterangan :

- A : jumlah sampel positif kultur MGIT dan positif Bilayer
- B : jumlah sampel positif kultur MGIT dan negatif Bilayer
- C : jumlah sampel negatif kultur MGIT dan positif Bilayer
- D : jumlah sampel negatif kultur MGIT dan negatif Bilayer
- NPP : Nilai prediksi positif (Probabilitas *M. tuberculosis* resisten isoniazid (INH) bila hasil ujinya positif)
- NPN : Nilai negatif (Probabilitas *M. tuberculosis* tidak resisten isoniazid (INH) bila hasil ujinya negatif).

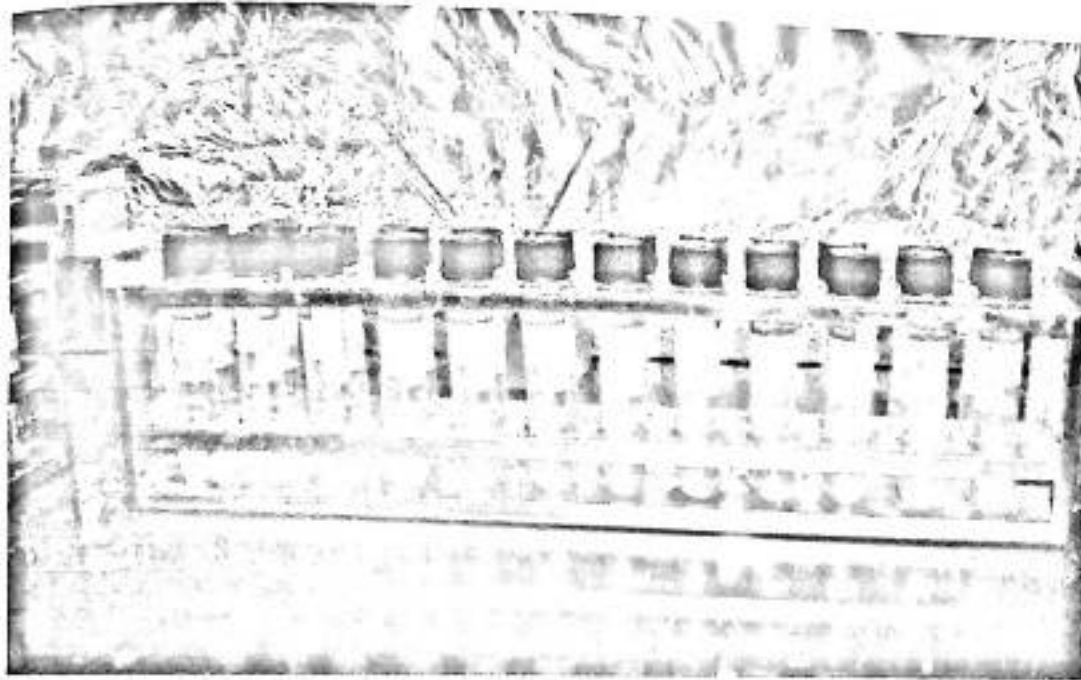
Lampiran VI. Gambar Pengamatan Pengecatan Basil Tahan Asam



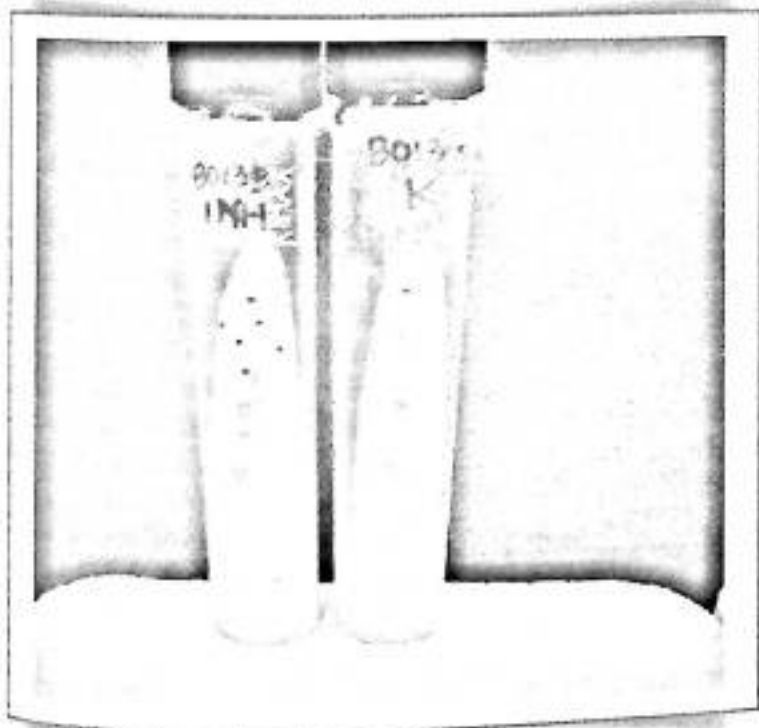
LAMPIRAN VII. Gambar Persiapan Inokulum untuk Uji OAT



Lampiran VIII. Gambar Medium MGIT



LAMPIRAN IX. Gambar hasil Bilayer





**KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN**

Sekretariat : Lantai 2 Gedung Laboratorium Terpadu
JL. PERINTIS KEMERDEKAAN KAMPUS TAMALANREA KM.10, Makassar Tlp. 0411-5780103, Fax, 581431
Contact Person: dr. Agussalim Bukhari, Mmed, PhD, SpGK Tlp. 081241850858,
E-mail : agussalimbukhari@yahoo.com

LEMBAR KEPUTUSAN

Nomor : 0989/H4.8.4.5.31/PP.36-KOMETIK/2011

Judul Penelitian : deteksi Resistensi Antibiotik Isoniazid (INH) pada Mycobacterium Tuberculosis dengan Metode Medium bilayer pada Pasien Tuberculosis Paru di Makassar

Nama Peneliti : **Fahima**

No. Register

U	H	1	1	0	9	0	2	4	3
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

A	<p>Rangkuman penilaian oleh reviewers</p> <ul style="list-style-type: none"> - Bahasa PSP disederhanakan; Jelaskan prosedur yg digunakan terhadap subjek - Jelaskan obat INH, dosis dan cara pemberiannya kepada subjek. - Pada PSP, Tdk perlu dijelaskan banyak teori; Masih banyak menggunakan bahasa medis; Manfaat apa yg dirasakan oleh subjek; Jelaskan procedure yg akan dijalani oleh subjek; helaskan tentang kerahasiaan data subjek 		
B	<p>Perlu <i>full board</i> : <input checked="" type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tidak</p> <p>a. Ya (terus ke C)i b. Tidak (terus ke D)</p>		
C	<p>Catatan Rapat Etik (<i>Full Board</i>)</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 30%;">Tgl/bulan/tahun</td> <td style="text-align: center;">5 Oktober 2011</td> </tr> </table> <p>Tindak Lanjut/ Catatan Rapat Etik Dikirimkan kembali ke yang bersangkutan dengan tembusan kepimpinan instansi</p>	Tgl/bulan/tahun	5 Oktober 2011
Tgl/bulan/tahun	5 Oktober 2011		
D	<p>Hasil Penilaian</p> <p><input type="checkbox"/> a. Disetujui</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> b. Disetujui dengan sedikit perubahan tanpa perubahan substansi (lihat lembaran pertimbangan / saran / petunjuk)</p> <p><input type="checkbox"/> c. Disetujui dengan perubahan substansi (lihat lembaran pertimbangan / saran / petunjuk)</p> <p><input type="checkbox"/> d. Ditunda untuk beberapa alasan (lihat lembaran pertimbangan / saran / petunjuk)</p> <p><input type="checkbox"/> e. Tidak dapat disetujui dengan beberapa alasan (lihat lembaran pertimbangan / saran / petunjuk)</p>		
E	<p>Penugasan pengawasan jalannya penelitian di lapangan untuk yang berisiko sedang – berat, mengobservasi apakah ada penyimpangan etik (tuliskan nama anggota komisi etik yang ditunjuk oleh rapat): dr. Uleng Bahrun, Ph.D,SpPK(K)</p>		

Makassar, 06 Oktober 2011

Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fak. Kedokteran Unhas
Ketua,

Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, M.Sc, Sp.GK
NIP. 19600504 1986 01 2 002



Sekretaris,

dr. Agussalim B. M.Med,PhD,Sp.GK
NIP. 19700821 199903 1001



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN**

Sekretariat : Lantai 2 Gedung Laboratorium Terpadu
JL. PERINTIS KEMERDEKAAN KAMPUS TAMALANREA KM.10, Makassar Tlp. 0411-5780103, Fax, 581431
Contact Person: dr. Agussalim Bukhari, Mmed, PhD, SpGK Tlp. 081241850858,
E-mail : agussalimbukhari@yahoo.com

Nomor : 0990/H4.8.4.5.31/PP36-KOMETIK/2011
Lampiran : 1 (satu) Berkas Lembar Keputusan
Perihal : Tanggapan atas permohonan *ethical clearance*

Kepada yth :
Dekan Fak. Farmasi Universitas Hasanuddin
di Tempat

Merujuk surat Saudara nomor 463/H4.32/PL.02/2011 tanggal 21 Februari 2011 perihal Permohonan Persetujuan Etik Penelitian, berjudul :

deteksi Resistensi Antibiotik Isoniazid (INH) pada Mycobacterium Tuberculosis dengan Metode Medium bilayer pada Pasien Tuberculosis Paru di Makassar

dengan Peneliti Utama **Fahima**, kami sampaikan hasil review Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fak. Kedokteran Unhas tanggal **5 Oktober 2011** Proposal dikembalikan untuk diperbaiki.

Mohon perbaikan disampaikan kepada Sekretariat KEPK Fak. Kedokteran Unhas selambat-lambatnya 2 (dua) minggu setelah saran diterima untuk diproses lebih lanjut. Untuk memudahkan koreksi, **perbaikan menggunakan huruf yang digaris bawahhi**.

Sesuai dengan pedoman operasional KEPK Fak.Kedokteran Unhas, penelitian tidak boleh dilakukan sebelum mendapatkan Persetujuan Etik.

Atas perhatian Saudara kami ucapkan terima kasih.

Makassar, 06 Oktober 2011

Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fak. Kedokteran Unhas

Ketua,

Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, M.Sc, Sp.GK
NIP. 19600504 1986 01 2 002

Sekretaris,

dr. Agussalim B., M.Med, PhD, SpGK
NIP. 19700821 199903 1001

Tembusan:

1. Yth. Fahima, Fak. Farmasi Universitas Hasanuddin
2. Peringgal



KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS HASANUDDIN
KAMPUS TAMALANREA
JALAN PERINTIS KEMERDEKAAN KM. 10 MAKASSAR 90245
TELEPON (0411) 586200, 584002 FAX. (0411)

SURAT PERSETUJUAN

Nomor : 040/H.04.22.2/Q/2012

Berdasarkan Keputusan Rektor Universitas Hasanuddin tentang Peraturan Akademik, Tanggal 25 Mei 2009 Nomor: 1870/H4/P/2009 pasal 28 ayat 1, dengan ini menerangkan bahwa :

N a m a : FAHIMA
Stambuk : N12107034
Fakultas : FARMASI
Program Studi : TEKNOLOGI LABORATORIUM KESEHATAN

Telah memenuhi syarat untuk Ujian Skripsi STRATA SATU (SI) dengan batas waktu ujian skripsi sampai dengan 17 FEBRUARI 2012. Demikian Surat Persetujuan ini dibuat untuk digunakan dalam proses pelaksanaan ujian skripsi. Surat izin ujian ini hanya berlaku untuk wisuda pada bulan MARET PERIODE III 2012 Terima Kasih.

Makassar, 16 FEBRUARI 2012



Kasubag Pendidikan dan Evaluasi
Universitas Hasanuddin,

ADL WARDYOYO, S. Hut.
NIP. 19670225 198703 1 002



Quality
ISO 9001
SAIGLOBAL



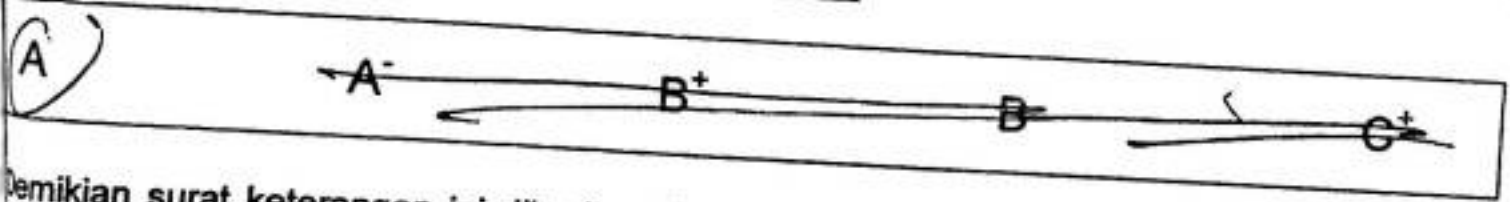
SURAT KETERANGAN
NILAI SIKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini, Pembimbing Utama menerangkan bahwa :

- Nama : FAHIMA
- NIM : N121 07 034
- Program : Konsentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan (TLK)
- Fakultas : Farmasi Universitas Hasanuddin
- Judul : "Deteksi *mycobacterium tuberculosis* yang resisten terhadap isoniazid (INH) dengan medium bilayer dari pasien tuberculosis paru di makassar".

Benar bahwa mahasiswa tersebut diatas sudah menyelesaikan skripsi, dan kepadanya dinyatakan LULUS / TIDAK LULUS dengan nilai :

90%



Demikian surat keterangan ini diberikan kepada yang bersangkutan untuk digunakan seperlunya.

Wakil Dekan I,

Muan

Prof. Dr. rer-nat. Marianti A. Manggau, Apt
 P. 1967319 199203 2 002

Makassar, Februari 2012

Pembimbing Utama,

Muan

Prof. Dr. M. Natsir Djide, M.Si., Apt
 NIP. 19500817 197903 1 003



DEPARTEME PENDIDIKAN NASIONAL
FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

KAMPUS UNHAS TAMALANREA JL.P.KEMERDEKAAN KM.10

Tlp.0411 588556, 580216,586200, Ext.1093, Fax. 0411 590663 MAKASSAR 90245

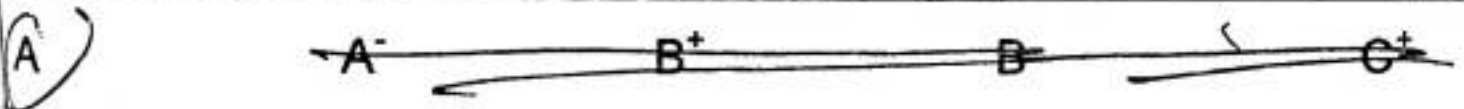
SURAT KETERANGAN
NILAI SIKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini, Pembimbing Utama menerangkan bahwa :

Nama : FAHIMA
NIM : N121 07 034
Program : Konsentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan (TLK)
Fakultas : Farmasi Universitas Hasanuddin
Judul : "Deteksi *mycobacterium tuberculosis* yang resisten terhadap isoniazid (INH) dengan medium bilayer dari pasien tuberculosis paru di makassar".

Benar bahwa mahasiswa tersebut diatas sudah menyelesaikan skripsi, dan kepadanya dinyatakan LULUS / TIDAK LULUS dengan nilai :

90



Demikian surat keterangan ini diberikan kepada yang bersangkutan untuk digunakan seperlunya.

Makassar, Februari 2012

Pembimbing Utama,

Prof. Dr. M. Natsir Djide, M.Si., Apt
NIP. 19500817 197903 1 003

Wakil Dekan I,

Prof. Dr. rer-nat. Marianti A. Manggau, Apt
P. 1967319 199203 2 002