

PROFIL *Mycobacterium tuberculosis* PASIEN TUBERKULOSIS SENSITIF RIFAMPISIN TERHADAP LAMA WAKTU PENUNDAAN PEMERIKSAAN SPUTUM

Siti Fatimah, Indah Sulistiyawati*, Nur Laila Rahayu

Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi,
Universitas Nahdlatul Ulama Purwokerto

Jl. Sultan Agung No. 42, Karangklesem, Purwokerto Selatan, Jawa Tengah, 53144

*Corresponding author: indahsulistiyawati.s2@gmail.com

ABSTRACT

Tuberculosis (TB) is an infectious disease that is currently still a serious health problem in society, both in terms of mortality rates, morbidity rates, diagnosis and its therapy rates. Sputum quality is an important component in laboratory examinations. The quality of sputum samples can affect the number of *M. tuberculosis* bacteria. This study aims to determine the differences in the morphological characteristics of *M. tuberculosis* bacteria with the length of time of delay in sputum sample examination. The study was conducted at the Klinik Utama Kesehatan Paru Masyarakat Purwokerto. The study used a descriptive method with a *cross-sectional* design. The sample population of this study were all suspected TB patients who underwent Molecular Rapid Technique (MRT) examinations at the Klinik Utama Kesehatan Paru Masyarakat Purwokerto (KKPM) in the January-June 2024. The research sampling technique was *purposive sampling* that met the inclusion criteria. The results of the study showed that the morphological characteristics of the *M. tuberculosis* bacteria vary in each sputum sample, based on differences in the quality of the sputum examined with a general description of the morphological characteristics of the bacteria, which have the form of *monobacillus*, *diplobacillus* and *bacillus*, solitary and in colonies, and are a type of Gram-positive bacteria.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, MDR-TB. TCM test, GeneXpert

PENDAHULUAN

Penyakit tuberkulosis (TB) adalah penyakit infeksi menular yang saat ini penyakit TB masih menjadi masalah kesehatan yang mengkhawatirkan baik dari sisi angka kejadian penyakit (morbidity), angka kematian (mortality), serta angka diagnosis dan terapinya (Misnarliah & Mudrika, 2021). Penyakit TB menduduki

peringkat pertama dalam kasus kematian terbanyak akibat penyakit menular sebelum COVID-19 melanda (Imam *et al.*, 2023). Kasus kejadian TB di Indonesia tercatat sebanyak 845.000 kasus dengan angka kematian sebanyak 98.000 (Sutrisna & Rahmadani, 2022).

Penyakit tuberkulosis (TB) disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Bakteri *M. tuberculosis*

memiliki ciri morfologi berbentuk batang, tidak berspora, tidak berkapsul, bersifat aerob, tumbuh optimal pada suhu 37°C, dan termasuk bakteri yang pertumbuhannya lambat (Gordon & Parish, 2017). Dinding sel bakteri *M. tuberculosis* sangat kompleks, dengan 60% tersusun dari lapisan lemak. Bakteri *M. tuberculosis* bisa menginfeksi berbagai organ tubuh, tetapi mayoritas menyerang paru-paru. Penyakit TB menular dari manusia ke manusia melalui udara lewat percikan *droplet* penderita TB yang mengandung bakteri *M. tuberculosis*.

Pada beberapa tahun terakhir banyak muncul kasus TB resistan antibiotik yang disebut TB-RO (TB Resistan Obat). Kasus TB-RO merupakan TB yang resistan terhadap setidaknya satu obat antiTB yaitu rifampisin (Rahman *et al.*, 2022). Penanganan kasus resistan obat memerlukan waktu lama dan lebih sulit untuk diobati dengan angka keberhasilan terapi 50%, penegakan diagnosis yang sulit, tingginya angka kegagalan terapi, dan kematian (Sutrisna & Rahmadani, 2022). Kasus resistan obat terjadi karena banyak faktor diantaranya riwayat pengobatan TB, minimnya pengetahuan mengenai penyakit TB, dan kepatuhan minum

obat yang tidak teratur. Faktor risiko lainnya adalah adanya riwayat Diabetes Melitus (DM) dan infeksi HIV-AIDS, tingkat pendidikan, tempat tinggal, jenis kelamin, kelompok usia, kebiasaan merokok dan konsumsi alkohol, serta status gizi (Bedru *et al.*, 2021).

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui perbedaan karakteristik morfologi bakteri *M. tuberculosis* pada pasien TB sensitif obat rifampisin terhadap lama waktu penundaan pemeriksaan sampel sputum. Pemeriksaan bakteriologis harus menggunakan sampel sputum dengan kualitas yang baik sehingga menghasilkan diagnosis yang tepat supaya tidak terjadi positif palsu ataupun negatif palsu, untuk menghasilkan penegakan diagnosis yang tepat perlu memperhatikan beberapa hal yaitu kualitas sampel sputum yang diperiksa, pembuatan sediaan apusan pewarnaan *Ziehl Neelsen*, dan cara penyimpanan sampel sputum. Pemeriksaan sputum secara mikroskopis yang bermutu merupakan komponen penting yang berpengaruh dalam penegakan diagnosis ataupun *follow-up* pasien yang menjalani pengobatan TB.

Hasil pemeriksaan sputum digunakan untuk menetapkan klasifikasi penderita, keputusan untuk memulai pengobatan, dan menyatakan kesembuhan penderita. Kualitas sputum merupakan komponen penting dalam pemeriksaan laboratorium, karena kualitas sampel sputum dapat mempengaruhi jumlah bakteri *M. tuberculosis* (Sugireng *et al.*, 2023). Ciri-ciri sputum yang baik diantaranya sedikit kental dan berlendir, kadang bernanah, dan berwarna hijau kekuningan. Guna untuk menjaga kualitas sputum yang baik pemeriksaan laboratorium harus segera dilakukan setelah pengambilan sampel sputum. Apabila sampel sputum disimpan pada suhu kamar selama 24 jam dapat mengakibatkan penurunan kualitas sputum dan perbedaan hasil pemeriksaan antara sputum langsung diperiksa dengan sputum yang ditunda pemeriksaannya (Budiharjo, 2016).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Klinik Utama Kesehatan Paru Masyarakat Purwokerto. Pelaksanaan waktu penelitian dibagi menjadi dua yaitu waktu prapenelitian dari bulan Januari-

Maret 2024 dan waktu pelaksanaan penelitian dari bulan April-Juni 2024.

Subjek Penelitian

Populasi sampel penelitian ini adalah seluruh pasien suspek TB yang melakukan pemeriksaan Teknik Cepat Molekuler (TCM) di Klinik Utama Kesehatan Paru Masyarakat (KKPM) Purwokerto periode bulan Januari-Juni 2024. Jumlah sampel penelitian ini 45 sampel sputum dari pasien TB paru dengan kriteria inklusi sampel pasien yang memiliki data rekam medik lengkap, pasien dengan hasil TCM resistan dan sensitif rifampisin, dan berusia >15 tahun. Sampel kualifikasi berasal dari sputum pasien suspek TB. Pemeriksaan TCM merupakan pemeriksaan cepat molekuler identifikasi TB dengan menggunakan alat *GeneXpert*. Pemeriksaan TCM berbasis molekuler yang menargetkan gen *rpoB* dalam deteksi bakteri *M. tuberculosis* dan resistansinya terhadap rifampisin.

Alat dan Bahan

Pada penelitian ini alat yang digunakan antara lain alat *GeneXpert*, biosafety cabinet class II, printer, barcode scanner, komputer, *catridge*,

stopwatch, pipet tetes, pot sputum, spidol, sarung tangan dan masker, tisu dan kapas, rak pewarnaan, pinset, bunsen, *object glass*, dan mikroskop. Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain reagen Xpert MTB/RIF, sampel sputum, alkohol 70%, dan zat pewarnaan *Ziehl Neelsen* (*carbol fuschin*, *alkohol asam*, dan *methylene blue*).

Metode dan Desain Penelitian

Penelitian menggunakan metode deskriptif dengan desain *cross sectional*. Teknik pengambilan sampel penelitian adalah *purposive sampling* yang memenuhi kriteria inklusi. Kriteria inklusi sampel pasien yang memiliki data rekam medik lengkap, pasien dengan hasil TCM resistan dan sensitif rifampisin, dan berusia >15 tahun, diluar kriteria diatas masuk dalam kelompok eksklusi. Ukuran sampel penelitian berjumlah 45 sampel pasien TB paru yang diambil dari 10% jumlah keseluruhan pasien TCM selama tiga bulan. Variabel independen pada penelitian ini adalah jenis kelamin, usia, riwayat pengobatan TB, kadar glukosa darah dan karakteristik morfologi *M. tuberculosis*. Variabel

dependen penelitian ialah kejadian TB resistan obat.

Teknik Pengumpulan Data

- a. Tahap persiapan penelitian dengan mengajukan *ethical clearance*. Penelitian ini telah mendapatkan izin dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto Nomor: 027/KEPK/PE/I/2024, tanggal 29 Mei 2024.
- b. Tahap pemeriksaan TB paru dengan menggunakan metode TCM, menggunakan sampel sputum untuk mendeteksi pasien TB sensitif obat dan TB resisten obat.
- c. Tahap identifikasi karakteristik morfologi bakteri *M. tuberculosis* dilakukan dengan menggunakan metode pewarnaan *Ziehl Neelsen*. Pengamatan mikroskopis digunakan untuk melihat karakteristik morfologi bakteri seperti bentuk bakteri, jenis bakteri (Gram positif atau Gram negatif), dan jumlah sel bakteri CFU/mL.

Analisis Data

Identifikasi dilakukan dengan cara pengamatan sediaan apusan dari sampel sputum pasien TB sensitif obat rifampisin dengan melihat karakteristik morfologi bakteri seperti bentuk bakteri, jenis bakteri, dan jumlah sel bakteri, selanjutnya hasil pengamatan dilakukan dengan secara mikroskopik dengan mikroskop elektron.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi karakteristik morfologi dan bakteri *M. tuberculosis* pada pasien TB sensitif rifampisin terhadap lama

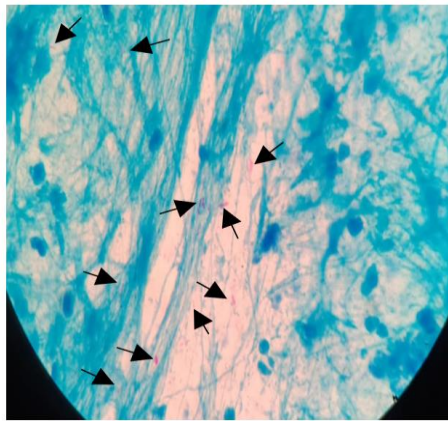
waktu penyimpanan sputum dibedakan menjadi dua status berdasarkan banyak sedikitnya bakteri pada sputum pasien yaitu kelompok *high* dan *medium*. Status hasil pemeriksaan TCM *high* artinya bakteri *M. tuberculosis* dalam tubuh ada dalam kadar yang tinggi, sedangkan status *medium* artinya kadar *M. tuberculosis* dalam tubuh sedang. Pengamatan makroskopis sampel sputum dengan perbedaan kondisi suhu dan waktu penundaan pemeriksaan menunjukkan adanya perbedaan kualitas sputum yaitu pada kekentalan dan warna sputum (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Pengamatan Makroskopis Sputum dengan Kondisi Suhu dan Waktu Penundaan Pemeriksaan Berbeda

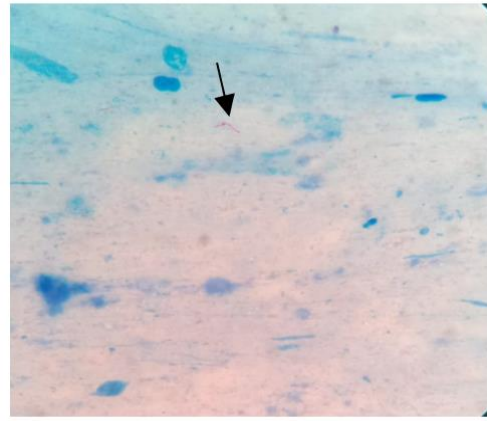
Sputum langsung diperiksa	Sputum ditunda 24 jam suhu 22°C
Sputum A₁ (High) -Sputum kental -Dapat dipisahkan antara sputum dan air liur -Warna sputum kuning kehijauan sedikit ada darah dan air liur bening	Sputum A₂ (High) -Sputum sedikit encer tapi terdapat lendir -Warna sputum putih bercampur dengan air liur
Sputum B₁ (Medium) -Sputum berlendir -Warna sputum bersih berbuih -Sputum bercampur dengan air liur	Sputum B₂ (Medium) -Sputum kental berlendir -Sputum bercampur air liur -Warna sputum sedikit kekuningan

Hasil pengamatan mikroskopis karakteristik morfologi bakteri *M. tuberculosis* melalui pewarnaan *Ziehl Neelsen* pasien sensitif rifampisin

kategori *high* dan *medium* menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100X dapat dilihat pada Gambar 1.



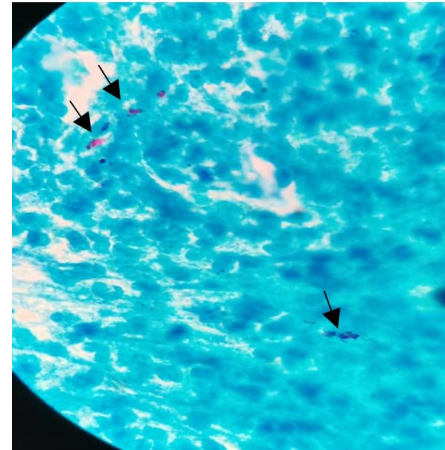
(a)



(b)



(c)



(d)

Gambar 1. Karakterisasi Morfologi Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* Secara Mikroskopis; (a) Sampel Sputum A₁ (*high*) Bentuk: Monobasil dan diplobasil Jenis bakteri: Gram Positif Jumlah bakteri: 13 (hidup secara soliter); (b) Sampel Sputum B₁ (*medium*) Sputum langsung diperiksa Bentuk: Diplobasil Jenis Bakteri: Gram Positif Jumlah bakteri: 2 (hidup secara soliter), (c) Sampel Sputum A₂ (*high*) Sputum ditunda 24 jam suhu 22°C Bentuk: Monobasil Jenis Bakteri: Gram Positif Jumlah bakteri: 1 (hidup secara soliter); (d) Sampel Sputum B₂ (*medium*) Sputum ditunda 24 jam suhu 22°C Bentuk: Basil Jenis Bakteri: Gram Positif Jumlah Bakteri: 3 koloni (terdapat koloni berwarna biru). Sputum langsung diperiksa Melalui Pewarnaan *Ziehl Neelsen* dengan Perbesaran 100X

Berdasarkan hasil identifikasi menunjukkan sampel sputum dengan hasil pemeriksaan TCM sensitif rifampisin (*high*) sputum langsung diperiksa pada suhu ruangan terbuka memiliki jumlah sel bakteri lebih

banyak dibandingkan sampel sputum sensitif rifampisin (*medium*) secara bakteriologis. Sampel sputum sensitif rifampisin (*high*) waktu penundaan 24 jam pada suhu ruangan dengan *Air Conditioner* (AC) 22°C memiliki

jumlah sel bakteri yang lebih sedikit dibandingkan dengan sampel sputum sensitif rifampisin (*medium*) waktu penundaan 24 jam pada suhu ruangan dengan AC 22°C. Jika dilihat dari status hasil pemeriksaan TCM sampel dengan hasil sensitif rifampisin (*high*) seharusnya mempunyai jumlah sel bakteri yang lebih banyak dibandingkan sampel sputum sensitif rifampisin (*medium*) secara bakteriologis, hal ini terjadi karena perbedaan kualitas sputum yang diperiksa. Berdasarkan Tabel 1 kualitas sampel sputum A₂ (*high*) sedikit encer dan bercampur dengan air liur dibandingkan kualitas sampel sputum B₂ (*medium*) yang lebih kental berlendir dan sedikit kekuningan. Sputum yang lebih encer dapat menyulitkan pembuatan preparat karena menyebabkan sputum sulit melekat pada lidi sehingga sel bakteri Basil Tahan Asam (BTA) banyak yang tidak ikut terbawa, selain itu sputum akan sulit melekat pada kaca objek mikroskop dan menyebabkan preparat sulit diwarnai dan dibaca, sehingga jumlah BTA yang terhitung lebih sedikit dari yang seharusnya (Budiharjo & Purjanto, 2016).

Hasil identifikasi juga menunjukkan terdapat perbedaan jumlah bakteri

M.tuberculosis dari sampel sputum yang dikerjakan langsung dan ditunda 24 jam pada suhu ruangan dengan AC 22°C antara sampel sputum A₁ (*high*) dan sampel sputum A₂ (*high*), walaupun memiliki hasil pemeriksaan TCM kategori yang sama (*high*) tetapi pada pemeriksaan bakteriologis mendapatkan hasil yang berbeda. Pemeriksaan bakteriologis harus menggunakan sampel sputum yang baik sesuai standar sehingga menghasilkan diagnosis yang tepat supaya tidak terjadi positif palsu ataupun negatif palsu. Kualitas sputum sering kali tidak baik (buruk) karena pasien tidak bisa membatukkan atau mengeluarkan sputum dari dalam dada dengan benar, biasanya yang keluar hanya air liur.

Perubahan konsistensi sputum dapat terjadi karena suhu hangat yang menyebabkan pecahnya granula-granula pada senyawa sputum sehingga menjadi lebih encer (Budiharjo & Purjanto, 2016). Menurut penelitian Handayani & Silviani (2022) terhadap lama waktu penyimpanan sputum 24 jam dan 48 jam menunjukkan bahwa semakin lama penyimpanan sputum jumlah bakteri akan menurun. Penurunan jumlah bakteri *M.tuberculosis* dapat terjadi karena

beberapa faktor pengaruh seperti faktor nutrisi, proses enzimatis pada sputum, dan perubahan konsistensi sputum. Hasil penelitian berdasarkan Tabel 2 ditemukan koloni bakteri berwarna biru, hal tersebut terjadi karena bakteri tidak dapat menyerap warna merah dari *carbol fuchsin* dan tidak bisa mempertahankan warnanya ketika disiram alkohol asam dan bakteri ikut terwarnai oleh *metilen blue* sehingga bakteri berwarna biru yang diakibatkan oleh proses enzimatis pada sputum.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, Z. 2017. Profil Hasil Pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* Menggunakan GeneXpert Pada Pasien Di Rumah Sakit Umum Kota Tangerang Selatan. *Program Studi Kedokteran dan Profesi Dokter. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta. (Skripsi).*
- Bedru, H., Fikru, M., Niguse, W., Jemal, A., Getinet, G. & Gobena, A., Hailu, A., & Peter. S. 2021. Drug resistance pattern of *M. tuberculosis* complex in Oromia Region of Ethiopia. *Infection and Drug Resistance*, 14: 1679-1689.
- Budiharjo, T., & Purjanto, A. K. 2016. Pengaruh penanganan sputum terhadap kualitas sputum penderita TBC secara mikroskopis bakteri tahan asam.

KESIMPULAN

Karakteristik morfologi bakteri *M. tuberculosis* bervariasi pada setiap sampel sputum dengan kondisi suhu dan waktu penyimpanan sputum yang berbeda menghasilkan gambaran umum karakteristik morfologi bakteri memiliki bentuk monobasil, diplobasil, dan basil, hidup secara soliter dan berkoloni, dan termasuk jenis bakteri Gram positif.

- Jurnal Riset Kesehatan*, 5(1): 40-44.
- Gordon, V. S., & Parish, T. 2018. Microbe profile: *Mycobacterium tuberculosis*: Humanity's deadly microbial foe. *Microbiology Society Journal*, 164: 437-439. doi:10.1099/mic.0.000601
- Handayani, D., & Silviani, Y. 2022. Pengaruh perbedaan suhu dan lama penyimpanan sputum terhadap jumlah bakteri tahan asam. *Jurnal Kesehatan Kusuma Husada*, 13(2): 234-242.
- Imam, S. R. F., Umboh, L. M. J., & Tuda, B. S. J. 2023. Faktor-faktor risiko yang berhubungan dengan kejadian multidrug-resistant tuberculosis (TB-MDR) di Kota Ternate Maluku Utara. *e-Clinic*, 11(3): 260-268.
- Isbaniah, F., Burhan, E., Sinaga, Y. M. B., Yanifitri, B. D., Handayani,

- D., Harsini., Agustin, H., Artika, N. I., Aphridasari, J., Lasmaria, R., Russilawati., Soedarsono., & Sugiri, R.J. Y. 2021. Tuberkulosis. In *Pedoman Diagnosis Dan Penatalaksanaan Di Indonesia*, pp. 1-79. Jakarta: Perhimpunan Dokter Paru Indonesia (PDPI).
- Kemenkes RI. 2022. *Profil Kesehatan Indonesia 2021*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Kementerian Kesehatan RI. 2022. Modul Pelatihan. In *Pemeriksaan Tuberkulosis Menggunakan Alat Tes Cepat Molekuler Bagi Tenaga Laboratorium Di Fasilitas Kesehatan*. Direktorat Jenderal Pencegahan Dan Pengendalian Penyakit.
- Kurniawan, E., Raveinal., & Arsyad, Z. 2016. Nilai dagnostik metode real time PCR GeneXpert pada TB Paru BTA negatif. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 5(3): 730-378. Retrieved from <http://jurnal.fk.unand.ac.id>.
- Latifah, L. A. 2018. Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* Resisten Rifampisin Berdasarkan Analisis Mutasi Sekuen Gen rpoB. *Universitas Padjajaran, Bandung. (Skripsi)*. Retrieved from <http://eprints.ulm.ac.id/id/eprint/7541>.
- Misnarliah., & Mudrika. 2021. Pengaruh penundaan pewarnaan preparat bakteri tahan asam metode Ziehl Neelsen terhadap hasil pemeriksaan mikroskopik. *Jurnal Teknosains Kodepena*, 01(02): 58-63.
- Mustajah, A. A., Kuswanto, H. C., Azuma, P. A., & Indriani, F. 2024. Pemeriksaan tes cepat molekuler pada pasien suspek TB paru di Puskesmas Ngadirejo Temanggung. *Jurnal Kesehatan Saelmakers Perdana*, 7(2): 278-285.
- Nabilah, A. E., Trusda, D.A.S., & Triyani, Y. 2022. Gambaran usia dan jenis kelamin pasien tuberkulosis rifampisin sensitif berdasar atas tes cepat molekuler di RS-AI Islam Kota Bandung Tahun 2018-2019. *Bandung Conference Series: Medical Science*, 2(1): 89-95.
- Parumasivan, T., Kumar, N. S. H., Mohamad, S., Ibrahim, P., & Sadikun, A. 2013. Effects of a lipophilic isoniazid derivative on the growth and cellular morphogenesis of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *International Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*, 5(4): 43-50.
- Rahman, W. I., Arfani, N., Faisal, W. M., Kesrianti, M. A., Fadlila, N. R., & Rantisari, D. M. A. 2022. Analisis mutasi gen rpoB sebagai penanda resistensi rifampisin pada penderita tuberkulosis paru di BBKPM Makassar. *Jurnal Ilmiah Universitas Muhammadiyah Buton*, 8(2): 353-362. doi:<https://doi.org/10.3532/pence rah.v8i2.1836>

- Rostikawati, T. R., & Supratman, L. 2021. Uji antibakteri obat kumur ekstrak etanol tanaman ciplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap bakteri Gram positif. *Jurnal Pendidikan dan Biologi*, 13(1): 103-107.
- Sugireng., Suwarny., & Rahman, A. 2023. Pengaruh penundaan sampel sputum yang diperiksa langsung dan ditunda selama 12 jam terhadap hasil pemeriksaan mikroskopis pada penderita TB di Puskesmas Laonti. *Jurnal Teknosains : Media Informasi dan Teknologi*, 17(3): 360-365.
- Sutrisna, M., & Rahmadani, E. 2022. Hubungan usia dan jenis kelamin dengan TB MDR. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 1(4): 370-376.
- Widodo., Irianto, A., & Pramono, H. 2016. Karakteristik morfologi *Mycobacterium tuberculosis* yang terpapar obat anti TB isoniazid (INH). *Jurnal Biosfera*, 33(3): 109-115. doi:10.20884/1.mib.2016.33.3.316.