

**LAPORAN TAHUN TERAKHIR
PENELITIAN DASAR UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
(PDUPT)**



**VALIDITAS DETEKSI *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* PADA
MUKOSA RONGGA MULUT PASIEN TUBERKULOSIS PARU**

TAHUN KE – 1 DARI RENCANA 2 TAHUN

Priyo Hadi, drg., M.S., Sp.PM.(K)

0011025404

Bagus Soebadi, drg., MHPEd., Sp.PM.(K)

0014105303

DIBIYAI OLEH:

**DIREKTORAT RISET DAN PENGABDIAN MASYARAKAT
DIREKTORAT JENDERAL PENGUATAN RISET DAN PENGEMBANGAN
KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
SESUAI DENGAN PERJANJIAN PENDANAAN PENELITIAN DAN PENGABDIAN
KEPADA MASYARAKAT
NOMOR: 122/SP2H/PTNBH/DRPM/2018**

**UNIVERSITAS AIRLANGGA
NOVEMBER 2018**

LAPORAN TAHUN TERAKHIR
PENELITIAN DASAR UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
(PDUPT)

KKA
KF
LP 08/19
Had
v



VALIDITAS DETEKSI *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* PADA
MUKOSA RONGGA MULUT PASIEN TUBERKULOSIS PARU

TAHUN KE – 1 DARI RENCANA 2 TAHUN

Priyo Hadi, drg., M.S., Sp.PM.(K)

0011025404

Bagus Soebadi, drg., MHPEd., Sp.PM.(K)

0014105303

DIBIYAI OLEH:
DIREKTORAT RISET DAN PENGABDIAN MASYARAKAT
DIREKTORAT JENDERAL PENGUATAN RISET DAN PENGEMBANGAN
KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
SESUAI DENGAN PERJANJIAN PENDANAAN PENELITIAN DAN PENGABDIAN
KEPADA MASYARAKAT
NOMOR: 122/SP2H/PTNBH/DRPM/2018

UNIVERSITAS AIRLANGGA
NOVEMBER 2018

Judul : VALIDITAS DETEKSI MYCOBACTERIUM
TUBERCULOSIS PADA MUKOSA RONGGA MULUT
PASIEN TUBERKULOSIS PARU

Peneliti/Pelaksana

Nama Lengkap : drg PRIYO HADI, S.KG, Sp.M
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga
NIDN : 0011025404
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Ilmu Penyakit Mulut
Nomor HP : 0818588483
Alamat surel (e-mail) : priyohadi100@gmail.com

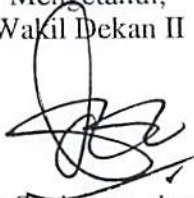
Anggota (1)

Nama Lengkap : BAGOES SOEBADI
NIDN : 0014105303
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Institusi Mitra (jika ada)

Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 75,000,000
Biaya Keseluruhan : Rp 150,000,000

Mengetahui,
Wakil Dekan II



(Dr. Agung Sostawan, drg., M.Kes.)
NIP/NIK 197112112008121003


Kota Surabaya, 12 - 11 - 2018

Ketua,



(drg PRIYO HADI, S.KG, Sp.M)
NIP/NIK 195402111980031002

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian dan Inovasi



(Prof. Drs. Hery Purnobasuki, M.Si., P.h.D.)
NIP/NIK 196705071991021001



RINGKASAN

Tuberkulosis sebagai salah satu penyakit infeksi mematikan di dunia memberikan dampak cukup besar pada negara berkembang, sebagaimana dikemukakan WHO bahwa pada tahun 2015 diperkirakan insidensi tuberkulosis baru mencapai 10,4 juta dan kematian dari 1,8 juta jiwa. Enam negara yang menghasilkan 60% kasus tuberkulosis dunia antara lain adalah India, Indonesia, Cina, Nigeria, Pakistan, dan Afrika Selatan.

Upaya pengendalian tuberkulosis adalah strategi TB DOTS (*Tuberculosis Directly Observed Treatment, Short Course*) yang telah diterapkan di banyak negara sejak tahun 1995, termasuk Indonesia. Salah satu pilar strategi tersebut adalah integrasi layanan TB yang berpusat pada pasien dan pencegahan TB yang termasuk di dalamnya adalah diagnosis TB sedini mungkin. Pemeriksaan bakteriologi untuk mengidentifikasi *Mycobacterium tuberculosis* sangat penting dalam penegakan diagnosis tuberkulosis. Pemeriksaan kultur sebagai baku emas diagnostik memerlukan waktu lama sehingga memperlambat penegakan diagnosis dan pencapaian strategi pengendalian infeksi. Metode diagnosis tuberkulosis yang hingga kini digunakan selama 15 tahun implementasi dan ekspansi program strategi TB DOTS adalah pemeriksaan BTA (Basil Tahan Asam) pada *direct smear* sputum, namun uji ini memiliki sensitivitas yang berkisar antara 20 – 65%. Hal ini menunjukkan bahwa dalam mendeteksi kasus tuberkulosis masih diperlukan metode diagnostik baru yang mudah, cepat, akurat, dan tidak mahal. Peningkatan deteksi kasus TB akan mengurangi angka morbiditas, mortalitas, dan risiko transmisi infeksi.

Beberapa penelitian dilakukan untuk mendapatkan alternatif spesimen, terkait sputum yang berkualitas baik sebagai spesimen utama penegakan diagnosis tuberkulosis tidak selalu mudah dikumpulkan dari pasien tuberkulosis paru, terutama pasien anak dan pasien infeksi HIV. Kekentalan sputum dapat mengganggu sensitivitas, meningkatkan heterogenitas sampel, biaya dan tenaga pekerja saat pemeriksaan. Sampel tersebut antara lain adalah darah, urin, saliva, bilasan mulut, dan epitel mukosa bukal rongga mulut. Penelitian pada beberapa sampel yang diambil dari rongga mulut untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* menunjukkan bahwa pemeriksaan DNA menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) pada sampel rongga mulut tersebut menunjukkan sensitivitas sekitar 89 – 100%. Uji PCR juga mendeteksi DNA *M. tuberculosis* pada 90% sampel swab mukosa bukal rongga mulut penderita tuberkulosis paru.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui validitas deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada mukosa rongga mulut pasien tuberkulosis paru. swab mukosa bukal cenderung memiliki komposisi dan volume yang seragam, tidak kental, sehingga memungkinkan pendekatan diagnosis yang lebih sederhana dan murah, terutama sebagai aplikasi pemeriksaan *point of care*.

Penelitian ini dilakukan pada 18 pasien yang datang ke poli TB RSUD Dr. Soetomo pada Bulan Maret 2017 – Juli 2018 dan dinyatakan menderita tuberkulosis paru sebagai subyek penelitian. Setiap subyek penelitian mendapat perlakuan berupa pengambilan spesimen pada mukosa bukal untuk dilakukan pemeriksaan BTA, kultur, dan PCR. Data hasil pemeriksaan kemudian dibandingkan, baik antar ketiga metode dan dengan hasil pemeriksaan BTA sputum.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Mycobacterium tuberculosis* dapat dideteksi pada pemeriksaan PCR swab mukosa bukal dari 2 subyek (11%), sedangkan pada pemeriksaan BTA dan kultur, tidak dideteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada mukosa bukal rongga mulut. Hal tersebut menunjukkan bahwa *M. tuberculosis* dapat ditemukan pada rongga mulut penderita tuberkulosis paru, walaupun cukup rendah. Hal ini diduga terkait dengan pertahanan lokal rongga mulut yang adekuat. *M. tuberculosis* yang terbawa oleh sputum infeksius ke rongga mulut kemudian mendapatkan respon dari flora normal rongga mulut yang bersifat bakterisidal terhadap *M. tuberculosis*. Selain flora normal, terdapat saliva yang juga memiliki fungsi antibakteri terhadap *M. tuberculosis*. Saliva juga merupakan sekret yang dihasilkan secara kontinyu sehingga aliran ini secara mekanis berfungsi sebagai *cleansing agent* dan meminimalisasi baik *M. tuberculosis* yang masih hidup ataupun fragmen bakteri tersebut untuk terdeposisi pada mukosa rongga mulut.

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

PRAKATA

Segala puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT, karena atas karunia, rahmat, dan hidayah-Nya, kami dapat menyelesaikan Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi Tahun Anggaran 2018 yang diselenggarakan oleh Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi, dengan judul “Validitas Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada Mukosa Rongga Mulut Pasien Tuberkulosis Paru” ini dengan baik.

Dalam kesempatan ini saya ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada

1. Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Indonesia
 2. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga
 3. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga
 4. Tropical Disease Diagnostic Center Universitas Airlangga
 5. Poli TB DOTS Rumah Sakit Umum Dr. Soetomo
 6. Departemen Ilmu Penyakit Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga
- Semoga penelitian ini dapat memberikan manfaat dan kebaikan bagi banyak pihak.

Tim Peneliti

Priyo Hadi

Bagus Soebadi

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
BAB 3 TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	20
BAB 4 METODE PENELITIAN	21
BAB 5 HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI	28
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	37

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Definisi Operasional Penelitian	22
Tabel 4.2 Skala IUATLD	25
Tabel 5.1 Tabulasi 2 x 2 Pemeriksaan BTA Sputum dengan PCR Swab	31
Tabel 5.2 Tabulasi 2 x 2 Pemeriksaan BTA Sputum dengan BTA Swab	31
Tabel 5.3 Tabulasi 2 x 2 Pemeriksaan BTA Sputum dengan Kultur Swab.....	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar 3.1 Lesi Ulser TB	12
Gambar 3.2 Hasil Mikroskopis Pengecatan Ziehl Neelsen	14
Gambar 3.3 Kultur pada Media Lowenstein Jensen	16
Gambar 5.1 Hasil Kultur Middlebrook	29
Gambar 5.2 Hasil Pemeriksaan PCR	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Penjelasan untuk Disetujui	37
Lampiran 2 Persetujuan Tindakan Penelitian	39
Lampiran 3 Sertifikat Uji Kelaikan Etik	40
Lampiran 4 Personalia Pelaksana Penelitian	41
Lampiran 5 Draft Artikel Publikasi Ilmiah	42

BAB 1 PENDAHULUAN

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

Tuberkulosis merupakan salah satu penyakit infeksi mematikan di dunia yang memberikan dampak cukup besar pada negara berkembang. WHO mengemukakan bahwa pada tahun 2014, diperkirakan terdapat 9.6 juta kasus baru tuberkulosis, yang terdiri atas 5.4 juta pria, 3.2 juta wanita, dan 1 juta anak – anak. Tuberkulosis tercatat mengakibatkan kematian 1.5 juta jiwa, yaitu 890.000 pria, 480.000 wanita, dan 140.000 anak (Floyd 2015). Kasus baru (insidensi) tuberkulosis pada tahun 2015 diperkirakan mencapai 10.4 juta, dengan 5.9 juta di antaranya adalah pria, 3.5 juta merupakan wanita, dan 1 juta penderita anak. Pada tahun yang sama, disebutkan pula bahwa tuberkulosis telah mengakibatkan kematian dari 1,8 juta jiwa (1,4 juta penderita HIV – negatif dan 0,4 juta penderita HIV – positif). Enam negara yang menghasilkan 60% kasus tuberkulosis dunia antara lain adalah India, Indonesia, Cina, Nigeria, Pakistan, dan Afrika Selatan (WHO 2016).

Prevalensi penduduk Indonesia dengan diagnosis tuberkulosis paru yang dilakukan oleh tenaga kesehatan pada tahun 2013 adalah 0.4 persen. Lima provinsi dengan tuberkulosis paru tertinggi adalah Jawa Barat (0.7%), Papua (0.6%), DKI Jakarta (0.6%), Gorontalo (0.5%), Banten (0.4%) dan Papua Barat (0.4%) (Balitbang Kemenkes RI 2013). Pada tahun 2014, prevalensi tuberkulosis di Indonesia adalah 647 kasus tiap 100.000 penduduk atau sekitar 0.65%, dan hal ini menunjukkan adanya peningkatan kasus dibandingkan prevalensi tuberkulosis pada tahun sebelumnya. Angka mortalitas tuberkulosis juga menunjukkan adanya peningkatan pada tahun 2014, yaitu menjadi 41 kasus tiap 100.000 penduduk dari 25 kasus tiap 100.000 penduduk pada tahun 2013. Kasus tuberkulosis yang ditemukan pada tahun 2015 sebanyak 330.910 kasus, yang meningkat bila dibandingkan dengan kasus pada tahun 2014 yang sebanyak 324.539 kasus. Jumlah kasus tertinggi dilaporkan ditemukan di provinsi dengan

jumlah penduduk terbanyak, yaitu Jawa Barat, Jawa Timur, dan Jawa Tengah. Kasus tuberkulosis yang terjadi di ketiga provinsi tersebut berkontribusi 38% dari seluruh kasus di Indonesia (Kementerian Kesehatan RI 2016).

Upaya pengendalian tuberkulosis adalah menggunakan strategi TB DOTS (*Tuberculosis Directly Observed Treatment, Short Course*) yang telah diterapkan di banyak negara sejak tahun 1995, termasuk Indonesia. Pada tahun 2005, strategi TB DOTS diperluas menjadi strategi stop TB yang dituangkan dalam 3 pilar strategi utama, antara lain: integrasi layanan TB berpusat pada pasien dan upaya pencegahan TB; kebijakan dan sistem pendukung yang berani dan jelas; dan intensifikasi riset serta inovasi (Ditjen PP dan PL Kemenkes RI 2014).

Strategi mengenai integrasi layanan TB yang berpusat pada pasien dan upaya pencegahan TB meliputi diagnosis TB sedini mungkin; pengobatan untuk semua pasien TB; kegiatan kolaborasi TB/HIV dan tatalaksana komorbid TB lain; serta upaya pemberian pengobatan pencegahan pada kelompok berisiko tinggi serta vaksinasi dalam mencegah TB (Ditjen PP dan PL Kemenkes RI 2014). Pemeriksaan bakteriologi untuk mengidentifikasi adanya *Mycobacterium tuberculosis* sangat penting dalam penegakan diagnosis tuberkulosis, yang secara konvensional ditegakkan menggunakan pemeriksaan mikroskopis dengan pengecatan *Ziehl Neelsen*, kultur, pemeriksaan radiografi, dan uji tuberkulin (Chang et al. 2012). Spesimen yang dapat digunakan untuk pemeriksaan tuberkulosis antara lain sputum, cairan pleura, cairan serebrospinal, cairan sendi, bilasan lambung, darah, dan jaringan lain (Brooks et al. 2013). Pemeriksaan kultur bakteri sebagai baku emas diagnostik dengan media Lowenstein Jensen memerlukan waktu yang lama (sekitar 4 – 8 minggu) sehingga memperlambat penegakan diagnosis dan menghambat pencapaian strategi pengendalian infeksi (Chang et al. 2012). Pemeriksaan lain dengan metode kultur cair membutuhkan waktu lebih singkat, namun memerlukan biaya yang lebih banyak (Leung et al. 2012).

Metode diagnosis tuberkulosis yang hingga kini digunakan selama 15 tahun implementasi dan ekspansi program strategi TB DOTS adalah pemeriksaan BTA (Basil Tahan Asam) pada *direct smear* sputum, namun uji ini memiliki sensitivitas yang berkisar antara 20 – 65% (Chang et al. 2012; Leung et al. 2012). Hal ini menunjukkan bahwa dalam mendeteksi kasus tuberkulosis masih diperlukan metode diagnostik baru yang mudah, cepat, akurat, dan tidak mahal. Peningkatan deteksi kasus TB akan mengurangi angka morbiditas, mortalitas, dan risiko transmisi infeksi. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mendapatkan alternatif dalam diagnosis tuberkulosis, terkait sputum yang berkualitas baik sebagai spesimen utama dalam penegakan diagnosis tuberkulosis tidak selalu mudah dikumpulkan dari pasien tuberkulosis paru, terutama pasien anak dan pasien infeksi *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) (Shenai et al. 2013). Kekentalan sputum dapat mengganggu sensitivitas, meningkatkan heterogenitas sampel, biaya dan tenaga pekerja saat pemeriksaan (Wood et al. 2015). Sampel tersebut antara lain adalah *exhaled breath condensate* (EBC), darah, urin, saliva, bilasan mulut, dan epitel mukosa bukal rongga mulut (Yassen et al. 2012; Wood et al. 2015; Shenai et al. 2013; Davis et al. 2009). Eguchi (2003) juga meneliti beberapa sampel yang diambil dari rongga mulut, antara lain seperti saliva, plak gigi, karies gigi, dan plak gigi tiruan untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis*. Hasil pemeriksaan DNA menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) pada keempat sampel rongga mulut tersebut menunjukkan sensitivitas sekitar 89 – 100%. DNA *M. tuberculosis* juga ditemukan pada plak gigi 68% penderita tuberkulosis dengan periodontitis (Palakuru, Lakshman, and Bhat 2012). Uji PCR juga mendeteksi DNA *M. tuberculosis* pada 90% sampel swab mukosa bukal rongga mulut penderita tuberkulosis paru (Wood et al. 2015).

Deteksi *M. tuberculosis* dalam rongga mulut dikaitkan dengan karakteristik tuberkulosis juga dapat menimbulkan manifestasi di rongga mulut, baik sebagai tuberkulosis primer ataupun sekunder, yang biasa disebut tuberkulosis rongga mulut atau tuberkulosis oral jarang terjadi,

hanya berkisar 0,05 – 5% dari total kasus penderita tuberkulosis (Sansare et al. 2011). Lesi tuberkulosis oral yang paling sering ditemui adalah lesi ulserasi, dengan tepi iregular dan indurasi, dasar lesi bergranulasi atau memiliki pseudomembran, dan lesi yang cenderung menetap (tidak kunjung sembuh) (Nanda et al. 2011). Kakisi menyatakan bahwa lesi tuberkulosis oral yang paling banyak ditemukan pada pasien tuberkulosis kepala leher pada tahun 1991 – 2007 adalah pada mukosa bukal atau pada vestibulum oris, kemudian pada gingiva, palatum, dan mukosa labial. Penelitian lain menunjukkan bahwa tuberkulosis oral primer, yang meskipun jarang terjadi, secara dominan banyak ditemukan pada gingiva dan mukosa bukal (Krawiecka and Szponar 2015). Dugaan sementara perjalanan penyakit tuberkulosis oral adalah agen infeksius yang terbawa oleh sputum dan memasuki area rongga mulut (Nanda et al. 2011). Lesi oral juga dikaitkan dengan penyebaran infeksi secara hematogen (Jain and Jain 2014).

Swab mukosa bukal cenderung memiliki komposisi dan volume yang seragam, tidak kental, sehingga memungkinkan pendekatan diagnosis yang lebih sederhana dan murah, terutama sebagai aplikasi pemeriksaan *point of care* (Wood et al. 2015). Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada *swabbing* mukosa bukal rongga mulut penderita tuberkulosis paru, baik dengan metode *direct smear* maupun kultur akan menjadi fokus pada penelitian ini.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

Tuberkulosis

Sejarah tuberkulosis diperkirakan dimulai pada 15.000 – 20.000 tahun yang lalu (Jain and Jain 2014). Hal tersebut berdasarkan temuan tuberkulosis spinal pada mumi di Mesir. Pada masa itu, tuberkulosis juga disebut dengan *King's Evil* atau *Captain of the men of death* oleh John Bunyan. Pada abad ke 18, tuberkulosis mencapai puncak prevalensi, sehingga mencapai 900 kematian setiap 100.000 kasus dan disebut sebagai *white plague*. Aristotle dan Galen menyatakan bahwa tuberkulosis menular, dan hal tersebut masih menjadi perdebatan hingga akhirnya Koch mendeskripsikan basil tuberkulosis pada tahun 1882 (Jain & Jain 2014; Gillespie & Hawkey 2006).

Koch memutuskan untuk melakukan pengecatan dan kultur dalam meneliti agen penyebab tuberkulosis, hingga pada tahun 1882, beliau mengemukakan hasil penelitiannya pada Perkumpulan Dokter Berlin (*Berlin Society of Physiology*). Penelitian tersebut menghasilkan suatu postulat Koch yang menyatakan bahwa apabila suatu mikroorganisme disebut sebagai agen etiologi penyakit, maka harus memenuhi kriteria sebagai berikut:

- a. Mikroorganisme harus ditemukan atau diidentifikasi pada semua kasus penyakit tersebut;
- b. Mikroorganisme yang diisolasi dari pejamu akan tumbuh pada kultur murni;
- c. Mikroorganisme akan menghasilkan penyakit yang sama dengan ketika diinokulasikan ke dalam tubuh pejamu lain (hewan coba);
- d. Mikroorganisme dapat ditemukan pada pejamu baru (hewan coba) dan diidentifikasi sebagai mikroorganisme yang sama dengan patogen asal.

Pada tahun 1883, agen etiologi tuberkulosis disebut sebagai *Mycobacterium tuberculosis* (Cambau and Drancourt 2014).

Mycobacterium tuberculosis

Tuberkulosis merupakan suatu penyakit infeksi bakteri. Penyakit ini disebabkan oleh agen patogenik yang disebut sebagai kompleks *Mycobacterium tuberculosis*. Kompleks tersebut terdiri atas *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. caprae*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. pinnipedii*, *M. mungi*, *M. orygis*, *M. canetti*, dengan spesies yang paling sering menyebabkan tuberkulosis pada manusia adalah *Mycobacterium tuberculosis* (Finer 2003; Kasper et al. 2015).

Mycobacterium tuberculosis adalah bakteri yang berbentuk basil (batang), berukuran 0.4 – 0.5 x 3µm, dan bersifat aerob. *Mycobacterium* tidak dapat dikategorikan sebagai bakteri gram positif maupun gram negatif, atau bersifat netral pada pengecatan gram (Brooks et al. 2013; Kasper et al. 2015). Hal ini mungkin dikarenakan bakteri sulit untuk diidentifikasi dengan pewarnaan gram (Parija 2012). Dinding sel *M. tuberculosis* sangat kompleks, terdiri dari lapisan lemak yang cukup tinggi (60%), dan tersusun oleh asam mikolat, lilin kompleks, trehalosa dimikolat (disebut dengan *cord factor*), dan *mycobacterial sulfolipids* yang berperan dalam virulensi, serta polisakarida seperti arabinogalaktan dan arabinomanan (PDPI 2011). Struktur dinding sel yang kompleks tersebut menyebabkan *Mycobacterium* memiliki karakter yang apabila dilakukan pengecatan pada bakteri tersebut, bakteri tidak dapat didekolorisasi oleh alkohol sehingga disebut sebagai basil tahan asam (Brooks et al. 2013). Mikroorganisme selain *Mycobacterium* yang memiliki karakteristik serupa, yaitu tahan terhadap pewarnaan asam adalah *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Legionella micdadei*, protozoa *Isospora* dan *Cryptosporidium* (Kasper et al. 2015). Teknik yang biasanya digunakan dalam mengidentifikasi basil tahan asam secara mikroskopis adalah pengecatan *Ziehl Neelsen* dan fluorokrom seperti auramin dan rhodamin (Brooks et al. 2013).

Sebagaimana disebutkan sebelumnya, dinding sel bakteri *M. tuberculosis* memiliki kandungan lipoarabinomannan dan arabinogalaktan. *Mycobacterium tuberculosis* tumbuh secara lambat jika dibandingkan dengan bakteri lain, dengan *generation time* sekitar 14 hingga 15 jam dan *doubling time* sekitar 18 jam (Brooks et al. 2013). Bakteri ini memerlukan media yang khusus untuk biakan, antara lain Lowenstein Jensen dan Ogawa dengan waktu sekitar 3 – 8 minggu inkubasi untuk menghasilkan koloni. Temperatur optimal adalah pada 37° C, dan tidak dapat tumbuh pada suhu kurang dari 25° C atau lebih dari 40° C (Parija 2012). Meskipun demikian, bakteri ini tahan terhadap suhu rendah sehingga masih tetap dapat hidup pada kisaran suhu 4° C hingga minus 70° C dan dapat bersifat dorman/tidur (Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan 2014). pH optimal berkisar antara 6.4 – 7.0 (Parija 2012).

Mycobacterium dapat dibunuh dengan panas bersuhu 60° C selama 15 – 20 menit. Ketahanan bakteri tergantung dari spesimen klinis yang mengandung bakteri tersebut. *Mycobacterium* dalam sputum dapat bertahan selama 20 – 30 jam, namun pada sputum kering yang dilindungi dari sinar matahari, bakteri dapat bertahan lebih lama, hingga mencapai 6 bulan. Bakteri dapat bertahan hidup dalam droplet nuclei selama 8 – 10 hari. Bakteri akan mati jika terpapar sinar matahari secara langsung selama 2 jam, namun akan bertahan dalam temperatur ruang selama 6 – 8 bulan (Parija 2012).

Beberapa karakteristik bakteri *Mycobacterium* lain yang dapat diaplikasikan dalam identifikasi antara lain adalah (Parija 2012):

- e. Uji niasin. Uji ini penting untuk untuk mengidentifikasi strain *M. tuberculosis* manusia niasin positif dan membedakannya dari strain *M. bovis* niasin negatif. Niasin dihasilkan sebagai produk metabolit saat bakteri ditumbuhkan dalam media padat yang mengandung telur.
- f. *M. tuberculosis* biasanya bersifat katalase positif. Bakteri ini akan kehilangan aktivitas katalase apabila telah resisten terhadap isoniazid.

- g. *M. tuberculosis* merupakan amidase positif, karena menghasilkan enzim amidase seperti nikotinamidase dan pirazinamidase.
- h. *M. tuberculosis* juga positif terhadap uji reduksi nitrat karena menghasilkan enzim nitrat reduktase yang mengubah nitrat menjadi nitrit.

Patogenesis Tuberkulosis

Mycobacterium tuberculosis menular melalui droplet udara yang disebut dengan *droplet nuclei* ketika batuk, bersin, bicara, ataupun menyanyi dari seseorang yang menderita tuberkulosis pulmoner. Droplet mengandung bakteri yang kemudian dapat menginfeksi paru, akan tetapi tidak menutup kemungkinan penyebaran ke organ lain, seperti kelenjar limfa, selaput paru, persendian, selaput otak, dan mengakibatkan tuberkulosis ekstrapulmoner (Knechel 2009).

Perjalanan penyakit tuberkulosis bermula dari droplet infeksius yang terhirup dan menetap sepanjang jalan nafas. *Mycobacteria* tersebar dalam suatu droplet yang memiliki diameter kurang dari 25µm (Brooks et al. 2013). Satu droplet aerosol infeksius dapat mengandung 1 hingga 400 basili, dan dosis infeksius tuberkulosis untuk seseorang berkisar antara 1 hingga 200 basili (Sakamoto 2012). Kebanyakan basili akan terperangkap pada saluran pernafasan bagian atas yang memiliki sel goblet penghasil mukus. Sekret mukus yang dihasilkan menangkap benda asing, memerangkap partikel tersebut untuk kemudian dikeluarkan. Sistem ini merupakan pertahanan pertama untuk mencegah infeksi yang berasal dari pajanan dengan penderita tuberkulosis (Knechel 2009).

Bakteri dalam droplet yang berhasil melewati sistem mukosiliaris tersebut, kemudian memasuki alveoli (Knechel 2009). Mikroorganisme kemudian berkontak dan ditelan makrofag sehingga beberapa bakteri akan dirusak dan beberapa bakteri lainnya tetap dapat melakukan multiplikasi. *Mycobacteria* patogenik dapat bertahan dan bermultiplikasi dalam makrofag karena dapat menghambat asidifikasi/pengasaman fagolisosom untuk tetap stabil pada pH 6,2

– 6,3 dan menetap pada jalur siklus endoplasma, sehingga mikroorganisme memiliki akses untuk mendapatkan nutrisi seperti iron (Gillespie and Hawkey 2006).

Makrofag juga dirangsang untuk menghasilkan sitokin dan kemokin pro inflamasi untuk mendatangkan leukosit pada lokasi infeksi. Neutrofil dan monosit datang terlebih dahulu, memfagosit lebih banyak bakteri, memproduksi lebih banyak sitokin dan kemokin, serta mulai membentuk suatu granuloma. Sel dendritik juga memfagosit *Mycobacterium* dan bermigrasi ke *lymph node* regional untuk mempresentasikan antigen pada limfosit. Granuloma yang terbentuk berisi makrofag yang terinfeksi dengan dikelilingi makrofag epitel, foam cell, *multinucleated giant cell of Langhans type*, limfosit, dan kapsul fibrous (Sakamoto 2012). Keadaan tersebut merusak makrofag dan menimbulkan nekrosis dalam pusat lesi. Setelah 2 – 3 minggu, isi dalam granuloma yang mengalami nekrosis tersebut mengakibatkan degenerasi kaseosa yang memiliki karakteristik kadar oksigen rendah, pH rendah, dan nutrisi yang terbatas. Kondisi tersebut membatasi perkembangan penyakit dan menimbulkan keadaan laten (Knechel 2009).

Lesi yang terbentuk pada individu dengan sistem imun yang baik akan mengalami fibrosis dan kalsifikasi, sehingga infeksi terkontrol dan bakteri berada dalam lesi yang sembuh dan tidak aktif (Knechel 2009). Lesi biasanya sembuh dalam waktu 2 – 6 bulan (Parija 2012). Apabila pejamu memiliki imunitas yang kurang baik akan menyebabkan progresi tuberkulosis primer. Dinding fibrous granuloma mengalami kerusakan sehingga konten nekrotik di dalamnya, termasuk basili tuberkulosis keluar menuju bronkus atau pembuluh darah terdekat dan meninggalkan suatu kavitas. Pasien yang terinfeksi menghasilkan droplet yang infeksius dan dapat menular pada orang lain. Jika basili mengalami penyebaran hematogen melalui pembuluh darah, akan terjadi suatu tuberkulosis ekstra pulmonar. Basili juga dapat bergerak menuju sistem limfatik sehingga menghasilkan suatu granuloma kaseosa baru (Knechel 2009).

Gejala Klinis Tuberkulosis

Gejala klinis penyakit tuberkulosis tergantung pada lokasi infeksi. Tuberkulosis primer biasanya terjadi di pulmonar. Berdasarkan gejala klinis yang dihasilkan, penyakit tuberkulosis diklasifikasikan menjadi dua macam, yakni tuberkulosis pulmonar dan ekstra pulmonar (Parija 2012).

Gejala klinis tuberkulosis terbagi menjadi 2, yakni gejala lokal dan gejala sistemik. Jika lesi infeksi berada di paru (tuberkulosis pulmonar) maka gejala lokal yang dimaksud adalah gejala respiratorik. Gejala respiratorik sangat bervariasi, mulai tanpa gejala hingga gejala yang cukup berat terkait dengan luas lesi. Gejala respiratorik meliputi batuk > 2 minggu, batuk darah, sesak nafas, dan nyeri dada (PDPI 2011). *Haemoptysis* (batuk darah) merupakan tanda khas pada sepertiga penderita tuberkulosis (Varaine and Rich 2014). Bila bronkus belum terlibat dalam proses penyakit, maka pasien mungkin tidak ada gejala batuk. Batuk yang pertama terjadi karena iritasi bronkus, dan selanjutnya batuk diperlukan untuk membuang dahak ke luar (PDPI 2011). Tuberkulosis pulmonar juga dapat menimbulkan berbagai macam bentuk komplikasi paru, misalnya keterlibatan pleura, aspergilloma, bronkiektasis, bronkolitiasis, dan fibrotoraks (Parija 2012).

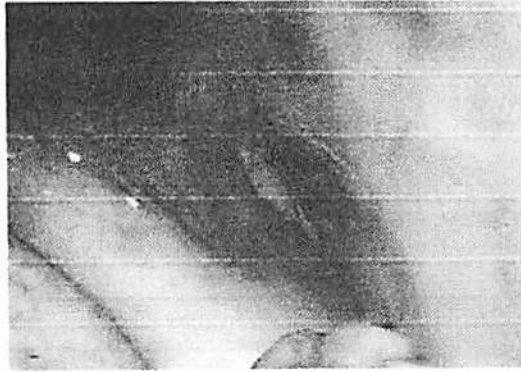
Gejala lokal pada tuberkulosis ekstra pulmonar sangat bermacam – macam tergantung lokasi infeksi tuberkulosis. Klasifikasi tuberkulosis ekstra pulmonar berdasarkan lokasinya antara lain: tuberkulosis genitourinaria, meningitis tuberkular, tuberkulosis gastrointestinal, tuberkulosis skeletal, limfadenitis tuberkular, dan yang lain (Parija 2012). Gejala sistemik yang dapat timbul pada penderita tuberkulosis adalah demam, malaise, keringat malam, anoreksia, berat badan menurun, nafas pendek, dan nyeri dada (Varaine and Rich 2014).

Tuberkulosis juga dapat menimbulkan manifestasi di rongga mulut, yang biasa disebut tuberkulosis rongga mulut atau tuberkulosis oral jarang terjadi, hanya berkisar 0,05 – 5% dari total kasus penderita tuberkulosis (Sansare et al. 2011). Lesi tuberkulosis oral yang paling sering ditemui adalah lesi ulserasi, dengan tepi iregular dan indurasi. Dasar lesi biasanya

bergranulasi atau memiliki pseudomembran. Lesi ini juga menetap (tidak kunjung sembuh) (Nanda et al. 2011), dapat berupa lesi tunggal, banyak, nyeri, atau bahkan tidak nyeri sama sekali (Chauhan et al. 2012). Terkadang lesi ulser tuberkulosis tampak sebagai ulser dangkal dengan indurasi jaringan lunak sekitar, lesi pada tulang yang memungkinkan progresi ke arah osteomyelitis tuberkulosis, atau radiolusensi tulang sederhana (Nanda et al. 2011; Jain & Jain 2014).

Tuberkulosis oral jarang berupa lesi tuberkulosis primer, lebih sering berupa lesi tuberkulosis sekunder (Jain and Jain 2014). Lesi oral paling banyak ditemukan pada lidah, kemudian bibir atas, dan palatum, gingiva, dan mukosa bukal (Mishra et al. 2015; Krawiecka & Szponar 2015). Kakisi menyatakan bahwa lesi tuberkulosis oral yang paling banyak ditemukan pada pasien tuberkulosis kepala leher pada tahun 1991 – 2007 adalah pada mukosa bukal atau pada vestibulum oris, kemudian pada gingiva, palatum, dan mukosa labial. Penelitian lain menunjukkan bahwa tuberkulosis oral primer, yang meskipun jarang terjadi, secara dominan banyak ditemukan pada gingiva dan mukosa bukal (Krawiecka and Szponar 2015). Lokasi lain yang dapat terserang adalah kelenjar saliva, tonsil, uvula, dan *ridge* mandibular (Mishra et al. 2015). Dugaan sementara adalah agen infeksius yang terbawa oleh sputum memasuki area rongga mulut dan mengkontaminasi bibir, gingiva, membran mukus rongga mulut, dan saliva (Nanda et al. 2011; Palakuru et al. 2012; Krawiecka & Szponar 2015). Lesi oral juga dikaitkan dengan penyebaran infeksi secara hematogen (Jain and Jain 2014). Tuberkulosis oral tanpa keterlibatan keadaan sistemik juga jarang terjadi (Sansare et al. 2011). Sebagai contoh, lesi oral tuberkulosis sering ditemui pada penderita dengan lesi paru, *lymph nodes*, atau sistem organ lain dalam tubuh (Mishra et al. 2015). Hal tersebut mungkin terkait dengan kondisi keutuhan mukosa, fungsi pembersih dari saliva, enzim saliva, antibodi jaringan, dan saprofit rongga mulut. sebagai barier infeksi, mekanisme pertahanan tersebut mungkin

rusak oleh karena abrasi, *oral hygiene* yang buruk, soket pencabutan, penyakit periodontal, pulpa yang terpapar, atau restorasi yang *overhanging* (Sansare et al. 2011).



Gambar 3.1. Lesi ulserasi tuberkulosis pada mukosa bukal. Tampak ulser tunggal, oval dengan dasar tertutup jaringan nekrotik berwarna putih dan tepi iregular dan indurasi (Krawiecka and Szponar 2015).

Penegakan Diagnosis Tuberkulosis

Diagnosis tuberkulosis dilakukan berdasarkan gejala klinis, pemeriksaan fisik, pemeriksaan bakteriologi, dan pemeriksaan penunjang lainnya (PDPI 2011). Tahap awal yang dilakukan adalah dengan melihat gejala utama tuberkulosis sebagaimana telah diuraikan sebelumnya. Namun demikian, gejala tersebut dapat dijumpai pada penyakit paru selain tuberkulosis, seperti bronkiektasis, bronkitis kronis, asma, kanker paru, dan lain – lain. Pada daerah dengan prevalensi tuberkulosis yang tinggi seperti di Indonesia, maka penderita dengan gejala tersebut diduga sebagai penderita tuberkulosis dan perlu untuk dilakukan pemeriksaan penunjang demi penegakan diagnosis (Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan 2014).

Teknik penegakan diagnosis secara konvensional yang selama ini digunakan antara lain adalah pemeriksaan mikroskopis dengan metode pengecatan *Ziehl Neelsen*, kultur, pemeriksaan radiografik, dan uji tuberkulin (Chang et al. 2012). Pemeriksaan biasanya menggunakan sputum yang berfungsi untuk menegakkan diagnosis, menilai keberhasilan pengobatan dan menentukan potensi penularan. Pemeriksaan sputum untuk penegakan

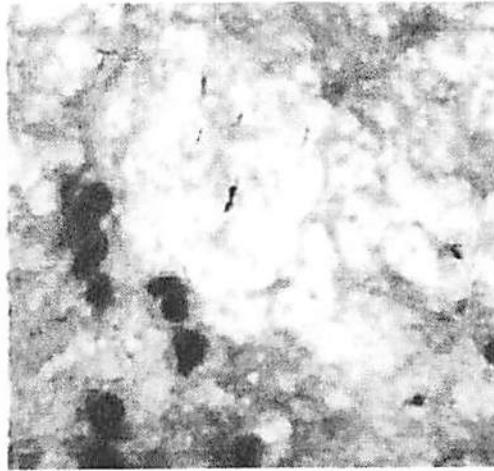
diagnosis dilakukan dengan mengumpulkan 3 contoh uji sputum yang dikumpulkan dalam dua hari kunjungan yang berurutan berupa sputum Sewaktu-Pagi-Sewaktu (SPS). Sputum sewaktu pertama ditampung pada saat pasien yang diduga tuberkulosis datang berkunjung pertama kali ke fasilitas pelayanan kesehatan. Pasien dengan dugaan tuberkulosis membawa pulang pot untuk menampung sputum pagi pada hari kedua dan diserahkan pada petugas di fasilitas pelayanan kesehatan. Sputum sewaktu kedua ditampung di fasilitas pelayanan kesehatan pada hari kedua, saat menyerahkan sputum pagi. Seseorang ditetapkan sebagai penderita tuberkulosis apabila minimal 1 dari pemeriksaan sputum menunjukkan basil tahan asam positif (Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan 2014).

a. *Direct Smear*

Pengecatan basil tahan asam adalah metode untuk mendemonstrasikan karakteristik tahan asam bakteri tertentu dan kista dari *Cryptosporidium* dan *Isospora*. Aplikasi klinis terpenting metode ini adalah dalam mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* dalam sampel sputum untuk menegakkan diagnosis tuberkulosis (Hussey and Zayaitz 2007). P

emeriksaan ini dapat keberadaan basil baik dalam keadaan hidup ataupun mati. Sistem semikuantitatif digunakan untuk menunjukkan jumlah basilus dalam spesimen (Stinson et al. 2014).

Tiga pengecatan tahan asam yang sering digunakan adalah *Ziehl Neelsen*, kinyoun, dan fluorokrom (Hussey and Zayaitz 2007). Metode pengecatan *Ziehl Neelsen* menggunakan pewarna karbol fuhsin, dekoloran asam alkohol, dan metilen biru. Organisme tahan asam akan berwarna merah, dengan latar berwarna biru (Stinson et al. 2014). Contoh hasil pengecatan *Ziehl Neelsen* dapat dilihat pada gambar 3.2.



Gambar 3.2. Gambaran mikroskopis pengecatan *Ziehl Neelsen* pada sputum. *Mycobacterium tuberculosis* tampak sebagai batang atau basil merah dengan latar belakang berwarna biru (Brooks et al. 2013).

Prosedur pengecatan *Ziehl Neelsen* adalah sebagai berikut (Brooks et al. 2013):

- a) Fiksasi apusan dengan panas
 - b) Beri larutan karbol fuhsin, panaskan perlahan selama 5 menit dengan api langsung, namun jangan sampai slide terlalu panas dan cairan menguap
 - c) Bilas dengan air suling
 - d) Dekolorisasi dengan asam alkohol 3%
 - e) Bilas dengan air suling
 - f) Dilakukan pengecatan ulang dengan metilen biru
 - g) Cuci preparat dan keringkan.
- b. Kultur

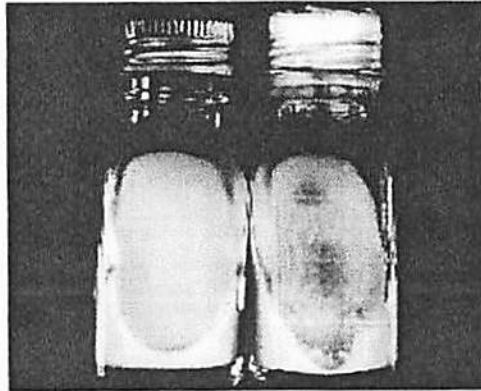
Pemeriksaan kultur atau biakan untuk identifikasi *Mycobacterium tuberculosis* dimaksudkan untuk menegakkan diagnosis pasti tuberkulosis pada pasien tertentu, misalnya pada pasien tuberkulosis ekstra paru, tuberkulosis anak, atau tuberkulosis dengan hasil pemeriksaan sputum mikroskopis langsung yang menunjukkan hasil basil tahan asam negatif. Pemeriksaan ini hanya dilakukan di sarana laboratorium dengan mutu yang terpantau (Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan 2014).

Mycobacterium merupakan bakteri yang tumbuh secara lambat, berkisar antara 2 -3 minggu, atau bahkan 8 minggu, terkait dengan *generation time* bakteri yang mencapai 14 – 15 jam. Bakteri tumbuh secara optimal pada suhu 37° C, dengan pH optimal 6.4 – 7.0. Kultur bakteri tuberkulosis dapat dilakukan baik pada media padat maupun cair. Media padat tersebut antara lain adalah media yang mengandung telur (Lowenstein-Jensen, Petragnani, dan Dorset), media mengandung darah (Tarshis dan Loeffler), dan media yang berbasis kentang (Pawlowsky). *Mycobacterium* akan tampak sebagai koloni dengan peninggian, kasar, dan permukaan kering. Media cair yang sering digunakan antara lain adalah Soloac's solution, Dubos, Middlebrook, dan Beck. Pertumbuhan bakteri biasanya pertama kali muncul pada dasar tabung, membentuk pelikel pada permukaan dan dapat berekstensi hingga ke sisi di atas media cair (Parija 2012).

Media pemeriksaan kultur yang direkomendasikan oleh *International Union against Tuberculosis* (IUAT) adalah Lowenstein-Jensen. Media ini terdiri atas telur utuh, asparagin, *malachite green*, gliserol, garam mineral dan sodium piruvat. Fungsi penambahan *malachite green* adalah untuk menghambat pertumbuhan bakteri selain *Mycobacterium*. Pemberian 0.75% gliserol meningkatkan pertumbuhan *M. tuberculosis*, namun menghambat *M. bovis*. Media cair jarang digunakan untuk kultur bakteri, akan tetapi lebih sering digunakan untuk persiapan antigen untuk vaksin dan menguji kepekaan antibiotik bakteri (Parija 2012).

Media kultur cair yang sering digunakan adalah Middlebrook 7H9 dan 7H12, dan keduanya mendukung pertumbuhan pada inokulasi yang kecil. *Mycobacterium* biasanya hanya tampak sebagai gumpalan atau masa pada media, berhubungan dengan karakteristik hidrofobik bakteri. Penambahan tween (ester atau asam lemak yang bersifat larut air) akan membasahi permukaan dan mengakibatkan pertumbuhan bakteri yang lebih terdispersi pada media. Pertumbuhan bakteri akan lebih cepat pada media cair daripada media padat. Middlebrook juga dapat digunakan sebagai media agar semisintetis, yaitu middlebrook 7H10 dan 7H11. Media

berisi garam, vitamin, kofaktor, asam oleat, albumin, katalase, dan gliserol, sedangkan pada 7H11 ditambahkan kasein hidrolisat. Albumin berfungsi dalam menetralkan toksik dan efek inhibisi asam lemak pada media. Inokulum besar dapat tumbuh pada media ini dalam beberapa minggu, namun media ini cenderung kurang sensitif dibandingkan dengan media lain dalam isolasi primer tuberkulosis (Brooks et al. 2013).



Gambar 3.3. Kultur *Mycobacterium tuberculosis* pada media Lowenstein – Jensen. Tampak satu media memiliki pertumbuhan bakteri, sedangkan media lainnya tidak. *Mycobacterium* akan tampak sebagai koloni dengan peninggian, kasar, dan permukaan kering (Samaranayake 2012).

Pemeriksaan konvensional ini masih memiliki keterbatasan, antara lain sensitivitas yang rendah (hasil negatif palsu yang tinggi) dan tidak dapat mengidentifikasi resistensi obat. Pemeriksaan kultur yang masih menjadi baku emas pemeriksaan tuberkulosis pun memerlukan waktu yang lama dan tenaga laboratoris khusus (Chang et al. 2012).

Rongga Mulut

Rongga mulut adalah suatu rongga yang dibatasi oleh bibir pada bagian anterior, faring pada bagian posterior, pipi pada sisi lateral, palatum pada sisi superior, dan otot dasar mulut pada bagian inferior. Rongga mulut dibagi menjadi dua area yang dipisahkan oleh tulang alveolar, yaitu vestibulum dan cavum oris. Rongga mulut dilapisi oleh epitel pipih berlapis yang lembap, bertujuan untuk mencegah abrasi permukaan mukosa (Seeley et al. 2008).

Rongga mulut adalah suatu pintu masuk utama pada tubuh manusia. Makanan masuk melalui mulut untuk dikunyah dan bercampur dengan saliva, dan kemudian bergerak sepanjang saluran pencernaan. Udara masuk melalui mulut dan hidung dalam perjalanan mencapai trakea

dan paru – paru. Rongga mulut memiliki beberapa habitat mikroba, seperti gigi, sulkus gingiva, lidah, pipi, palatum keras, dan palatum lunak. Area ekstensi yang berhubungan langsung dengan rongga mulut adalah tonsil, faring, esophagus, saluran eustachius, telinga tengah, trakea, paru – paru, rongga hidung, dan sinus (Dewhirst et al. 2010). Terdapat lebih dari 700 spesies bakteri yang diidentifikasi dan mempengaruhi kesehatan rongga mulut. Penelitian menyatakan bahwa area dalam mulut, seperti maksila, palatum keras, palatum lunak, bahkan lateral dan dorsum lidah memiliki profil mikroorganisme yang berbeda (Zarco, Vess, and Ginsburg 2012).

Mikroorganisme yang berkolonisasi dalam rongga mulut dapat menyebar ke permukaan epitel rongga atau area yang berhubungan tersebut. Mikroorganisme yang ditemukan dalam rongga mulut dan area ekstensi yang berhubungan langsung (terbatas hingga distal esofagus) diterminologikan sebagai flora normal rongga mulut. Mikroorganisme dalam rongga mulut dapat menimbulkan sejumlah penyakit, antara lain adalah karies, periodontitis, alveolar osteitis, dan tonsillitis. Mikroorganisme rongga mulut juga disebutkan berkaitan dengan beberapa penyakit sistemik, seperti penyakit kardiovaskuler, stroke, kelahiran prematur, diabetes, dan pneumonia (Dewhirst et al. 2010).

Mukosa Rongga Mulut

Mukosa rongga mulut adalah suatu membran mukus yang melapisi rongga tubuh yang berkaitan dengan dunia luar, antara lain rongga mulut, hidung, faring, gastrointestinal, dan urogenital. Dalam rongga mulut, lapisan tersebut disebut sebagai membran mukus atau mukosa rongga mulut. Mukosa mulut terdiri atas dua komponen jaringan yang berbeda: jaringan epitel dan jaringan ikat di bawahnya. Jaringan tersebut berfungsi bersamaan sehingga mukosa dapat dianggap sebagai organ (Christopher Squier and Brogden 2011).

Mukosa rongga mulut memiliki berbagai macam fungsi, dan yang paling penting adalah fungsi proteksi terhadap kelenjar dan jaringan yang terletak lebih dalam pada rongga mulut.

Epitel mukosa berperan sebagai barier dalam pencegahan transit antigen dan patogen, yang tergantung pada jembatan interseluler yang mempertahankan kohesi sel epitel (Mestecky et al. 2005). Fungsi lainnya meliputi persepsi sensoris, sintesis dan sekresi kelenjar pada mukosa dan faktor estetik. Mukosa sebagai lapisan permukaan melindungi jaringan dan organ dalam rongga mulut, mengingat aktivitas normal seperti mengunyah dan menggigit menimbulkan tekanan mekanis dan abrasi permukaan (Christopher Squier and Brogden 2011).

Epitel mukosa rongga mulut terbagi menjadi dua kategori, yaitu epitel berkeratin dan tidak berkeratin. Epitel berkeratin meliputi palatum keras dan gingiva, sedangkan epitel tidak berkeratin meliputi mukosa bukal, palatum lunak, dan dasar mulut. Epitel rongga mulut mempertahankan integritas jaringan melalui proses pembaruan sel yang berlangsung terus menerus, dengan aktivitas mitosis berada pada lapisan basal, dan sel bermigrasi ke permukaan untuk menggantikan sel yang mengelupas (Christopher Squier and Brogden 2011). Proses yang juga bertujuan untuk mempertahankan dimensi epitel mukosa ini disebut sebagai regenerasi epitel (*turnover*). Setiap satu sel yang mengalami mitosis adalah untuk satu sel yang mengelupas, dan laju proses ini berbeda – beda sesuai dengan tipe epitel (Field and Longman 2003). Sel epitel dibagi menjadi dua macam berdasarkan fungsinya, yaitu sel progenitor yang mengalami proliferasi dan sel maturasi yang mengalami diferensiasi (Christopher Squier and Brogden 2011). Proliferasi dan diferensiasi sel epitel ini diatur oleh beberapa faktor, antara lain kalsium ekstraseluler, ester, asam retinoat, dan vitamin D3 (C a Squier and Kremer 2001).

Pada dasarnya, terdapat flora normal rongga mulut pada permukaan mukosa yang dapat menimbulkan infeksi jika mendapatkan akses ke dalam jaringan. Mikroorganisme pada rongga mulut sangat beragam dan mencapai 500 macam bakteri ditemukan pada plak dan saliva (Christopher Squier and Brogden 2011). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa banyak bakteri yang terdapat pada permukaan mukosa, seringkali dikarenakan suatu organel atau

adesin spesifik yang berikatan dengan reseptor permukaan mukosa. Ikatan spesifik antara adesin bakteri dan reseptor pejamu menimbulkan kemampuan bakteri melakukan perlekatan pada lokasi tertentu permukaan mukosa dan tahan terhadap dislokasi maupun tekanan hidrokinetik yang mengenai permukaan tersebut (Mestecky et al. 2005).

Meskipun adesi bakteri memiliki peran penting dalam kolonisasi pada mukosa, akan tetapi masih diperlukan beberapa tahap dalam menimbulkan suatu infeksi (Mestecky et al. 2005). Epitel pada mukosa berfungsi sebagai barier utama untuk mencegah penetrasi dan sebagai sistem imunoprotektif mukosa. Jaringan oral dapat merespon pajanan bakteri yang kontinyu tersebut baik melalui respon imun alami maupun adaptif (Christopher Squier and Brogden 2011). Proliferasi sel, peningkatan sekresi mukus, endositosis bakteri yang melekat, dan pelepasan mediator pro inflamasi serta inflamasi oleh sel mukosa dan submukosa merupakan bagian dari sistem imunoprotektif tersebut. Dengan demikian, mukosa dapat menahan kolonisasi bakteri sehingga dapat mencegah terjadinya infeksi (Mestecky et al. 2005).

BAB 3**TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN****Tujuan Penelitian**

Membuktikan bahwa metode deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada swabbing mukosa bukal rongga mulut pasien tuberkulosis paru merupakan metode yang valid yang tinggi sebagai penegakan diagnosis tuberkulosis paru.

Manfaat Penelitian

Memberikan informasi dan pengetahuan mengenai metode deteksi *Mycobacterium tuberculosis* sebagai penegakan diagnosis tuberkulosis paru berbasis sampel rongga mulut.

Memberikan data dan informasi mengenai validitas deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada swabbing mukosa bukal rongga mulut pasien tuberkulosis paru sebagai penegakan diagnosis tuberkulosis paru.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *cross sectional study group* untuk mengidentifikasi *Mycobacterium tuberculosis* pada rongga mulut pasien tuberkulosis paru.

4.2. Populasi, Sampel, dan Teknik Sampling

4.2.1. Populasi

Populasi adalah pasien tuberkulosis paru di Rumah Sakit Dr. Soetomo Surabaya.

4.2.2. Sampel

Sampel diambil dari apusan mukosa rongga mulut pasien tuberkulosis paru yang datang ke Rumah Sakit Dr. Soetomo Surabaya.

Kriteria inklusi:

- Pasien baru yang terdiagnosis tuberkulosis paru (setidaknya belum pernah mendapatkan terapi lebih dari 7 hari setelah awal didiagnosis).
- Usia pasien antara 19 – 65 tahun.

Kriteria Eksklusi:

- Individu dengan riwayat pernah menderita tuberkulosis sebelumnya, mendapatkan terapi obat anti tuberkulosis, baik yang dinyatakan sembuh maupun belum.
- Individu yang termasuk dalam *vulnerable patients*, antara lain adalah individu dengan kebutuhan khusus, sebagai contoh tuna rungu, tuna netra, tuna grahita, tuna laras, dan tuna daksa, serta ibu hamil dan menyusui.

Besar sampel:

$$n = \frac{z_{1-\alpha/2}^2 \times p (1 - p)}{d^2}$$

n = besar sampel minimum

$z_{1-\alpha/2}$ = nilai distribusi normal baku (tabel Z) pada α tertentu

p = harga proporsi di populasi

d = kesalahan (absolut) yang dapat ditoleransi

4.2.3. Teknik Sampling

Penelitian ini menggunakan teknik *consecutive sampling*, yaitu setiap pasien yang memenuhi kriteria disertakan dalam penelitian selama 6 bulan hingga jumlah sampel yang diperlukan terpenuhi.

4.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

Variabel dalam penelitian ini adalah jumlah basil tahan asam pada sputum pasien tuberkulosis paru di Rumah Sakit Dr. Soetomo Surabaya dan *Mycobacterium tuberculosis* pada mukosa bukal rongga mulut penderita tuberkulosis paru.

4.3.1. Definisi Operasional

Tabel 4.1. Definisi Operasional Penelitian.

Variabel	Definisi Operasional	Cara Pengukuran	Hasil	Skala
Jumlah basil tahan asam sputum pasien tuberkulosis paru	Hasil pemeriksaan <i>direct smear</i> sputum pasien tuberkulosis paru sebagai salah satu metode penegakan diagnosis tuberkulosis paru selain pemeriksaan fisik dan radiografi. Pemeriksaan <i>direct smear</i> dilakukan dengan mengumpulkan 3 contoh uji sputum yang dikumpulkan dalam dua hari kunjungan yang berurutan berupa sputum Sewaktu-Pagi-Sewaktu (SPS)	Pemeriksaan Ziehl Neelsen: pemeriksaan mikroskopis berupa metode pengecatan untuk mendeteksi basil tahan asam. Prinsip pemeriksaan ini adalah pengecatan karbol fuhsin yang didekolorisasi menggunakan asam alkohol dan kemudian dilakukan <i>counterstain</i> menggunakan metilen biru (Stinson et al. 2014).	Basil tahan asam akan tampak sebagai organisme berwarna merah dengan latar belakang berwarna biru, sehingga mengkonfirmasi karakteristik tahan asam bakteri <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (Stinson et al. 2014). Penilaian dilakukan berdasarkan skala IUATLD, yaitu BTA (-), BTA (+1), BTA	Ordinal

Variabel	Definisi Operasional	Cara Pengukuran	Hasil (+2), dan BTA (+3).	Skala
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada mukosa bukal rongga mulut	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> yang dideteksi dan diidentifikasi dari hasil swabbing pada epitel mukosa rongga mulut subyck penelitian. Swabbing epitel mukosa rongga mulut adalah teknik pengambilan dan pengumpulan sampel dari rongga mulut berupa sel epitel dan saliva menggunakan material absorpsi kecil yang terdapat pada salah satu ujung stik.	Pemeriksaan Ziehl Neelsen: pemeriksaan mikroskopis berupa metode pengecatan untuk mendeteksi basil tahan asam. Prinsip pengecatan karbol fuhsin yang didekolorisasi menggunakan asam alkohol dan kemudian dilakukan <i>counterstain</i> menggunakan metilen biru (Stinson et al. 2014).	Basil tahan asam akan tampak sebagai organisme berwarna merah dengan latar belakang berwarna biru, sehingga mengkonfirmasi karakteristik tahan asam bakteri <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (Stinson et al. 2014). Penilaian dilakukan berdasarkan skala IUATLD, yaitu BTA (-), BTA (+1), BTA (+2), dan BTA (+3).	Ordinal
		Metode Kultur: pengisolasian dan pertumbuhan bakteri pada suatu media, baik media padat maupun cair. Kultur bakteri <i>M. tuberculosis</i> pada media padat biasanya dilakukan pada media berbasis telur-kentang (<i>Lowenstein-Jensen</i>) atau agar albumin (<i>Middlebrook</i>) (Stinson et al. 2014).	Banyak pertumbuhan koloni bakteri <i>M. tuberculosis</i> pada media kultur, diklasifikasikan dalam pengukuran ada dan tidak ada.	Nominal
		Metode PCR: Merupakan suatu proses sintesis enzimatis untuk mengamplifikasi nukleotida secara <i>in vitro</i> . DNA target yang digunakan adalah <i>gyrB</i> , pada <i>M. tuberculosis complex</i> .	Hasil amplifikasi dideteksi menggunakan metode elektroforesis, gel kemudian diletakkan di bawah transluminator ultraviolet untuk melihat	

Variabel	Definisi Operasional	Cara Pengukuran	Hasil	Skala
			adanya pita DNA spesifik.	

4.4. Lokasi dan Waktu Penelitian

4.4.1. Lokasi

Penelitian ini akan dilakukan di Poli Tuberkulosis – Multi Drug Resistance (TB – MDR) Rumah Sakit Dr. Soetomo Surabaya.

4.4.2. Waktu

Penelitian ini dilakukan pada periode Maret 2018 – Juli 2018

4.5. Alat dan Bahan

Set diagnostik kedokteran gigi, Nierbekken, Gelas kumur, Spiritus brander, Mikroskop, Rekam medis pasien, Alat tulis kantor, Lembar pengumpulan data, Kotak penyimpanan preparat, Tang penjepit, Korek api, Inkubator, Handscoen, Masker, *Cytobrush*, Kertas tissue, Object glass, Larutan carbol fuchsin 0.3%, Larutan asam alkohol 3%, Spiritus . Air suling, Larutan methylene blue 0.1%, Minyak emersi, Media Lowenstein-Jensen, Media Middlebrook 7H9, Media Middlebrook 7H10

4.6. Prosedur Pemeriksaan Sampel

4.6.1. Pengambilan Sampel

Swab dikumpulkan dari setiap subyek penelitian, yaitu pasien tuberkulosis paru baru. Pengambilan sampel dilakukan pada pasien yang baru mendapatkan diagnosis tuberkulosis paru dan belum mendapatkan terapi obat anti tuberkulosis atau setidaknya belum mencapai 7 hari pengobatan. Deep swabbing dilakukan menggunakan *cytobrush*, pada penderita terduga tuberkulosis paru baru. Pasien tidak diperkenankan makan, minum, dan melakukan prosedur pembersihan gigi sekitar 2 jam sebelum dilakukan tindakan. Deep swabbing dilakukan sepanjang mukosa bukal subyek sekitar 7 – 8 apusan untuk mengumpulkan sel epitel dan saliva (Yassen et al. 2012; Wood et al. 2015).

4.6.2. Pengecatan pada sediaan swabbing

Swab mukosa bukal yang diperoleh kemudian dibuatkan apusan seluas 1 x 2 cm² pada kaca obyek yang diberi label terlebih dahulu. Setelah pengeringan di udara, preparat difiksasi dengan melidahapikan 3-5 kali selama 4 detik. Sediaan kemudian dituangi larutan carbol fuchsin 3% pada seluruh permukaan, kemudian dipanaskan di atas nyala api hingga keluar asap namun tidak sampai mendidih atau kering, selama 5 menit. Sediaan dibiarkan dingin selama 5 hingga 7 menit dan kelebihan zat warna dibuang dan dicuci dengan air mengalir. Larutan asam alkohol 3% (*hydrochloric acid – ethanol*) dituang pada sediaan, dan dibiarkan selama 2 hingga 4 menit. Sediaan kemudian dituangi dengan metilen biru 0.1% selama 30 detik, dicuci dengan air mengalir selama kurang lebih 1 – 3 menit dan larutan dibuang serta dicuci dengan air mengalir (Stinson et al. 2014).

4.6.3. Pembacaan Hasil

Preparat yang dibuat kemudian diamati atau dibaca di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000x dengan terlebih dahulu meneteskan minyak emersi pada sediaan. Jumlah bakteri tahan asam yang ditemukan dilaporkan sesuai dengan skala IUATLD (*International Union Against Tuberculosis and Lung Diseases*, lihat tabel 4.1.).

Tabel 4.2. Skala IUATLD

Pembacaan di bawah Mikroskop	Pelaporan Hasil
Tidak ditemukan BTA dalam 100 lapangan pandang	Negatif
1 – 9 BTA dalam 100 lapangan pandang	Jumlah BTA ditemukan
10 – 99 BTA dalam 100 lapangan pandang	1+
1 – 10 BTA dalam 1 lapangan pandang	2+
>10 BTA dalam 1 lapangan pandang	3+

4.6.4. Metode kultur sampel swabbing

Kultur dilakukan menggunakan metode standar pada medium selektif Lowenstein-Jensen dan Middlebrook pada suhu inkubator 37° C dan pada atmosfer 10% CO₂ dan 90% udara. Media mengandung gliserol untuk meningkatkan pertumbuhan *Mycobacterium*

tuberculosis, sedangkan penambahan *malachite green* untuk menghambat pertumbuhan bakteri lain (Stinson et al. 2014).

Pengamatan koloni bakteri yang tumbuh dilakukan dua kali seminggu, hingga periode waktu < 4 minggu, sedangkan pada periode ≥ 4 minggu dilakukan seminggu sekali. Identifikasi dilanjutkan dengan pemeriksaan *Ziehl Neelsen*. Kultur dikatakan negatif jika tidak ada pertumbuhan koloni atau koloni yang ditemukan diidentifikasi sebagai bakteri selain *Mycobacterium tuberculosis*. Kultur kemudian akan dilanjutkan dengan uji identifikasi berupa uji niasin untuk membedakan *M.tuberculosis* yang merupakan niasin positif dengan *M.bovis* yang merupakan niasin negatif.

4.6.5. Metode Polymerase Chain Reaction

Setelah melalui tahap dekontaminasi, dilakukan proses isolasi DNA. Tambahkan pellet dengan PBS hingga volume mencapai 220 μ l, dan kemudian dimasukkan pada mikrotube 1,5 ml. Tahapan selanjutnya adalah pipet 20 μ l proteinase K dan tambahkan 200 μ l Buffer AL. Campur dengan menggunakan Vortex, kemudian tambahkan 200 μ l ethanol (96%-100%) dan campur dengan menggunakan vortex. Campuran dipipet ke dalam kolom berputar DNeasy Mini tempatkan dalam tabung koleksi 2ml, lalu sentrifuse dengan kecepatan 8000 rpm selama 1 menit. Spin column bawah dan isinya dibuang (ganti spin column). Tambahkan 500 μ l buffer AW1, kemudian sentrifuse dengan kecepatan 8000 rpm selama 1 menit. Spin column bawah dan isinya dibuang (ganti spin column). Tambahkan 500 μ l buffer AW2, kembali dilakukan sentrifuse, dengan kecepatan 14000 rpm selama 3 menit. Spin column bawah dan isinya dibuang, dan pindahkan column pada mikrosentrifuse 1,5 ml. dilakukan elusi DNA dengan 50 μ l buffer AE pada bagian tengah membran. Inkubasi pada suhu ruangan selama 1 menit lalu sentrifuge dengan kecepatan 8000rpm selama 1 menit (QIAGEN, 2006).

Tahapan selanjutnya setelah dilakukan isolasi DNA adalah DNA amplifikasi. Sebanyak 5 μ l DNA *template*, 12,5 μ l PCR Mix, masing – masing 1 μ l primer MTUB-f 5'-

TCGGACGCGTATGCGATATC-3' dan primer MTUB-r 5'-ACATACAGTTCGGACTTGCG-3', dan 5,5 µl akuades dicampur ke dalam *microtube* 0,5 ml dengan total campuran sebanyak 25 µl. Proses *cycling* diawali dengan tahap predenaturasi selama 2 menit, suhu 94 °C, kemudian dilanjutkan dengan tahap denaturasi 94 °C, 20 detik, *annealing* pada suhu 54,3 °C selama 10 detik, dan dilanjutkan dengan tahap *extension* pada suhu 72 °C selama 30 detik. Tahap denaturasi, *annealing*, dan *extension* dilakukan sebanyak 35x siklus dan diakhiri dengan *final extensions* selama 5 menit pada suhu 72 °C dan tahap elongation selama 5 menit, suhu 4 °C. Dalam setiap proses PCR selalu disertai dengan kontrol positif (merupakan bakteri *M. tuberculosis* H37Rv), dan kontrol negatif.

Hasil PCR dideteksi menggunakan elektroforesis. Gel agarose konsentrasi 2% yang digunakan untuk melihat hasil PCR, dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer yang telah berisi larutan TBE 0,5x, kemudian dipanaskan hingga larut. Larutan gel agarose yang larut tersebut kemudian dituangkan ke dalam cetakan gel agarose dengan sisir. Setelah gel memadat/beku, sisir dapat diangkat, dan gel siap untuk digunakan dalam proses *running* elektroforesis. Gel agaroses dimasukkan ke dalam tangki elektroforesis (Biorad) yang berisi larutan TBE 0,5x hingga terendam. Produk PCR dimasukkan ke dalam sumur yang tercetak di gel agarose, dimasukkan pula larutan *marker* sebagai penanda ukuran DNA dan kemudian dijalankan pada tegangan 150 volt selama kurang lebih 20 hingga 30 menit. Setelah proses elektroforesis selesai, gel kemudian dikeluarkan dari tangki elektroforesis dan direndam dalam campuran larutan *ethidium bromide* dan TBE yang berfungsi sebagai pewarna selama 10-15 menit. Gel kemudian diletakkan pada transluminator ultra violet, dan didokumentasikan dengan kamera digital. Hasil positif ditunjukkan adanya pita DNA spesifik pada ukuran 500 bp.

4.7. Pengolahan dan Analisis Data

Data hasil pemeriksaan disusun dalam suatu tabulasi data, dan dilakukan uji sensitivitas dan spesifisitas antara pemeriksaan apusan mukosa rongga mulut, baik pengecatan *Ziehl Neelsen* maupun kultur dengan diagnosis kasus tuberkulosis paru.



BAB 5

HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

Hasil Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan pemeriksaan terhadap 18 subyek penelitian menggunakan metode *direct smear*, kultur, dan PCR. Subyek penelitian adalah pasien dengan diagnosis tuberkulosis paru yang mendapatkan perawatan di poli DOTS Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Soetomo pada Bulan Maret sampai dengan Juli 2018.

Kedelapan belas subyek penelitian adalah pasien yang dinyatakan menderita tuberkulosis paru dengan/tanpa disertai tuberkulosis ekstra paru. Subyek yang dipilih adalah penderita tuberkulosis yang belum mendapatkan terapi, atau mendapatkan terapi maksimal 2 minggu. Enam belas subyek belum mendapatkan terapi sama sekali saat dilakukan pengambilan sampel pemeriksaan. Diagnosis tuberkulosis subyek penelitian ditentukan oleh dokter paru yang bertugas di Poli DOTS Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Soetomo Surabaya. Diagnosis ditegakkan melalui anamnesis, pemeriksaan klinis, dan pemeriksaan penunjang, seperti pemeriksaan mikrobiologi dan pemeriksaan radiografi. Salah pemeriksaan penunjang yang dilakukan adalah pemeriksaan *direct smear* pada sputum. Berdasarkan hasil tersebut, didapatkan 6 dari 18 pasien menunjukkan hasil BTA negatif, sedangkan 8 pasien memiliki hasil BTA sekurangnya satu sampel dengan hasil +1 pada sputum SPS berdasarkan skala IUATLD. Sebanyak dua pasien memiliki hasil +3, dan dua pasien menunjukkan hasil *scanty*.

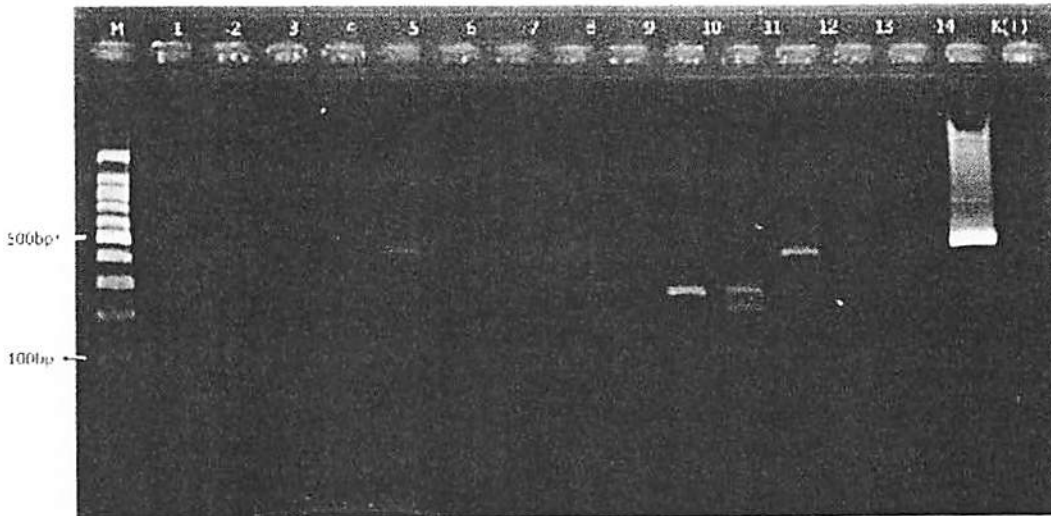
Pada penelitian ini, dilakukan tiga cara pemeriksaan dalam mendeteksi keberadaan *Mycobacterium tuberculosis* pada deep swabbing yang berasal dari mukosa rongga mulut penderita tuberkulosis paru, yaitu pemeriksaan *direct smear*, kultur, dan PCR Gen *gyrB*. Pada 18 sampel dari pasien tersebut, semua sampel menunjukkan hasil *Mycobacterium tuberculosis*

negatif (0%) pada pemeriksaan *direct smear* dengan pengecatan *Ziehl Neelsen*, yang ditunjukkan dengan tidak ditemukannya bentuk batang (basil) berwarna merah dengan warna dasar biru muda di bawah mikroskop. Pemeriksaan kultur pada 18 sampel menunjukkan bahwa tidak ada pertumbuhan koloni pada media padat agar Middlebrook 7H10 setelah dilakukan inkubasi selama 3 – 5 minggu (Gambar 5.1).



Gambar 5.1. Hasil kultur media Middlebrook 7H10. Tampak tidak ada pertumbuhan mikroorganisme pada agar (Sumber: Dokumentasi Pribadi).

Pemeriksaan PCR yang divisualisasikan dengan elektroforesis menunjukkan bahwa ekstraksi sampel DNA yang diamplifikasi memberikan dua hasil positif berdasarkan adanya pita DNA 500 bp (Gambar 5.2).



Gambar 5.2. Hasil produk PCR dari gen *gyrB* *M. tuberculosis*. Tampak ada pita DNA 500 bp pada sampel nomor 5 dan 12. K(+) adalah kontrol positif *M. tuberculosis* H37Rv; K(-) adalah kontrol negatif; M adalah DNA marker (Sumber: Dokumentasi pribadi).

Berdasarkan hasil pemeriksaan yang dilakukan pada subyek penelitian, didapatkan bahwa sensitivitas pemeriksaan *direct smear Ziehl Neelsen* pada sputum adalah 66.7%, sedangkan sensitivitas pemeriksaan *direct smear Ziehl Neelsen* pada swab mukosa bukal pasien adalah 0%. Hasil pemeriksaan kultur dan PCR pada swab mukosa bukal masing – masing juga memberikan sensitivitas sebesar 0% dan 11%. Sensitivitas metode pemeriksaan *direct smear*, kultur, dan PCR dari swab mukosa bukal terhadap pemeriksaan *direct smear* sputum masing – masing adalah 0%, 0%, dan 5.5%. Spesifisitas dari metode pemeriksaan *direct smear*, kultur, dan PCR dari swab mukosa bukal masing – masing adalah 33%, 33%, dan 28%. Hal ini menunjukkan bahwa pemeriksaan pada sputum dapat lebih mendeteksi keberadaan *M. tuberculosis* dibandingkan dengan pemeriksaan pada swab mukosa bukal. Dari ketiga pemeriksaan pada swab, juga didapatkan bahwa metode *Polymerase Chain Reaction* dapat mendeteksi keberadaan *Mycobacterium tuberculosis* dalam rongga mulut, sedangkan metode *direct smear* dan kultur tidak. Berdasarkan pemeriksaan PCR yang dilakukan, dua sampel swab mukosa bukal dinyatakan memiliki DNA *GyrB* dari *M. tuberculosis*. Kedua sampel tersebut

adalah sampel yang diambil dari seorang pasien dengan hasil *direct smear* sputum negatif dan seorang dengan hasil +1, dan belum mendapatkan terapi sama sekali. Satu orang memiliki riwayat penyakit sistemik diabetes mellitus.

Tabel 5.1. Tabulasi 2x2 Pemeriksaan Bakteriologi *M. tuberculosis* pada sputum dan swab mukosa bukal penderita tuberkulosis dengan teknik PCR.

Sputum	Swab	PCR	
	(+)	(-)	Total
Positif	1 (5.5%)	11 (61%)	12 (67%)
Negatif	1 (5.5%)	5 (28%)	6 (33%)
Total	2 (11%)	16 (89%)	18

Tabel 5.2. Tabulasi 2x2 Pemeriksaan Bakteriologi *M. tuberculosis* pada sputum dan swab mukosa bukal penderita tuberkulosis dengan teknik *direct smear* ZN.

Sputum	Swab	Direct Smear ZN	
	(+)	(-)	Total
Positif	0 (0%)	12 (67%)	12 (67%)
Negatif	0 (0%)	6 (33%)	6 (33%)
Total	0 (0%)	18 (100%)	18

Tabel 5.3. Tabulasi 2x2 Pemeriksaan Bakteriologi *M. tuberculosis* pada sputum dan swab mukosa bukal penderita tuberkulosis dengan kultur.

Sputum	Swab	Kultur Middlebrook	
	(+)	(-)	Total
Positif	0 (0%)	12 (67%)	12 (67%)
Negatif	0 (0%)	6 (33%)	6 (33%)
Total	0 (0%)	18 (100%)	18

Luaran yang Dicapai

Data hasil penelitian mengenai metode deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada swabbing mukosa bukal rongga mulut pasien tuberkulosis paru sebagai penegakan diagnosis tuberkulosis paru yang diperoleh telah disusun menjadi artikel untuk publikasi ilmiah yang sedang dalam proses review.

BAB 6**KESIMPULAN DAN SARAN****Kesimpulan**

Mycobacterium tuberculosis ditemukan pada deep swabbing pada mukosa bukal rongga mulut pasien paru menggunakan metode PCR, namun tidak pada metode *direct smear* dan kultur. Metode deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada swabbing mukosa bukal rongga mulut pasien tuberkulosis paru merupakan metode yang kurang valid sebagai penegakan diagnosis tuberkulosis paru.

Saran

Pada penelitian ini, *Mycobacterium tuberculosis* dapat dideteksi dalam rongga mulut, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada rongga mulut di Indonesia, terlebih mengenai potensi transmisi infeksi *Mycobacterium tuberculosis* dalam praktik pelayanan kesehatan gigi dan mulut sehari – hari sebagai upaya dalam pengendalian kasus tuberkulosis.

DAFTAR PUSTAKA

- Balitbang Kemenkes RI. 2013. "RISET KESEHATAN DASAR 2013." Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Brooks, Geo F, Stephen A Morse, Karen C Carroll, Janet S Butel, and Timothy A Mietzner. 2013. *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology*. 26th ed. McGraw-Hill Medical.
- Cambau, E, and M Drancourt. 2014. "Steps towards the Discovery of Mycobacterium Tuberculosis by Robert." *European Society of Clinical Infectious Diseases* 20 (3). European Society of Clinical Infectious Diseases: 196–201. doi:10.1111/1469-0691.12555.
- Chang, Kai, Weiping Lu, Junji Wang, Kejun Zhang, Shuangrong Jia, Fake Li, Shaoli Deng, and Ming Chen. 2012. "Rapid and Effective Diagnosis of Tuberculosis and Rifampicin Resistance with Xpert MTB / RIF Assay : A Meta-Analysis." *Journal of Infection*, no. March. Elsevier Ltd: 1–9. doi:10.1016/j.jinf.2012.02.012.
- Chauhan, V, D M Mahesh, P Panda, S Mahajan, and S Thakur. 2012. "Tuberculosis Cutis Orificialis (TBCO): A Rare Manifestation of Tuberculosis." *Journal of Association of Physicians of India* 60 (february): 2011–12.
- Davis, J Lucian, Laurence Huang, Joseph A Kovacs, Henry Masur, Patrick Murray, Diane V Havlir, William O Worodria, et al. 2009. "Polymerase Chain Reaction of secA1 on Sputum or Oral Wash Samples for the Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis." *Clinical Infectious Disease* 48(10): 725–32. doi:10.1086/597038.
- Dewhirst, Floyd E, Tuste Chen, Jacques Izard, Bruce J Paster, Anne C R Tanner, Wen-han Yu, Abirami Lakshmanan, and William G Wade. 2010. "The Human Oral Microbiome ¶ † ¶." *Journal of Bacteriology* 192 (19): 5002–17. doi:10.1128/JB.00542-10.
- Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan. 2014. "Pedoman Nasional Pengendalian Tuberkulosis." *Katalog Dalam Terbitan: Kementerian Kesehatan Nasional*.
- Dirjen P2&PL Kementerian Kesehatan RI. 2011. "Terobosan Menuju Akses Universal, Strategi Nasional Pengendalian TB Di Indonesia 2010-2014." *Stop TB*, 1–80. http://www.searo.who.int/indonesia/topics/tb/stranas_tb-2010-2014.pdf.
- Ditjen PP dan PL Kemenkes RI. 2014. "Pedoman Nasional Pengendalian Tuberkulosis." Jakarta: Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan Kementerian Kesehatan RI.
- Field, Anne, and Lesley Longman. 2003. *Tyldesley's Oral Medicine*. 5th ed. United Kingdom: Oxford University Press.
- Finer, Kim R. 2003. *Deadly Diseases and Epidemics Tuberculosis*. Edited by I Edward Alcamo. Philadelphia: Chelsea Hous Publishers.
- Floyd, Katherine. 2015. "Global Tuberculosis Report 2015." *WHO Press*. France. doi:10.1017/CBO9781107415324.004.
- Gillespie, Stephen H, and Peter M Hawkey. 2006. *Principles and Practice of Clinical Bacteriology*. Edited by Stephen H Gillespie and Peter M Hawkey. 2nd ed. West Sussex: John Wiley & Sons. doi:10.1002/9780470017968.
- Hussey, Marise a., and Anne Zayaitz. 2007. "Acid-Fast Stain Protocols." *ASM Conference for*

Undergraduate Educators. doi:10.1128/MMBR.00028-07.

- Jain, Pankaj, and Isha Jain. 2014. "Oral Manifestations of Tuberculosis: Step towards Early Diagnosis." *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 8 (12): ZE18–21. doi:10.7860/JCDR/2014/10080.5281.
- Kasper, Dennis L, Stephen L Hauser, J Larry Jameson, Joseph Loscalzo, Dan L Longo, and Anthony S Fauci. 2015. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 19th ed. New York: McGraw Hill Education.
- Kementerian Kesehatan RI. 2016. "Profil Kesehatan Indonesia 2015." Jakarta: Kementerian Kesehatan RI. doi:351.077 Ind.
- Knechel, Nancy a. 2009. "Tuberculosis: Pathophysiology, Clinical Features, and Diagnosis." *Critical Care Nurse* 29 (2): 34–43. doi:10.4037/ccn2009968.
- Krawiecka, Ewa, and Elżbieta Szponar. 2015. "Tuberculosis of the Oral Cavity: An Uncommon but Still a Live Issue." *Advances in Dermatology and Allergology* 32 (4): 302–6. doi:10.5114/pdia.2014.43284.
- Leung, E, J Minion, A Benedetti, M Pai, and D Menzies. 2012. "Microcolony Culture Techniques for Tuberculosis Diagnosis: A Systematic Review." *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease* 16 (1): 16–23. doi:10.5588/ijtld.10.0065.
- Mestecky, Jiri, Michael E Lamm, Warren Strober, John Bienenstock, Jerry McGhee, and Llyod Mayer. 2005. *Mucosal Immunology*. Edited by 3rd. London: Elsevier.
- Mishra, Ashwini Kumar, Surya Kant, Laxmi Verma, Karthik Nagaraju, Noopur Upadhyay, Anubhuti Singh, and Ankit Kumar. 2015. "Coexistence of Carcinoma Cheek with Tuberculosis : A Rarity." *International Journal of Research in Medical Sciences* 3 (3): 780–82. doi:10.5455/2320-6012.ijrms20150349.
- Nanda, K D S, A Mehta, M Marwaha, M Kalra, and J Nanda. 2011. "A Disguised Tuberculosis in Oral Buccal Mucosa." *Dental Research Journal* 8 (3): 154–59.
- Palakuru, Sunil Kumar, Vandana K Lakshman, and Kishore G Bhat. 2012. "Microbiological Analysis of Oral Samples for Detection of Mycobacterium Tuberculosis by Nested Polymerase Chain Reaction in Tuberculosis Patients with Periodontitis." *Dental Research Journal* 9 (6): 688–93.
- Parija, Subhash Chandra. 2012. *Textbook of Microbiology & Immunology*. 2nd ed. India: Elsevier.
- PDPI. 2011. "Pedoman Penatalaksanaan TB (Konsensus TB)." *Perhimpunan Dokter Paru Indonesia*. Indonesia. doi:10.5860/CHOICE.41-4081.
- Reksa, Hasta. 2016. "Tuberkulosis Paru BTA Positif Jatim Tembus 15." <http://surabayaonline.co/2016/01/22/tuberkulosis-paru-bta-positif-jatim-tembus-15-371-kasus/>.
- Sakamoto, K. 2012. "The Pathology of Mycobacterium Tuberculosis Infection." *Veterinary Pathology* 49 (3): 423–39. doi:10.1177/0300985811429313.
- Samaranayake, Lakshman. 2012. *Essential Microbiology for Dentistry*. 4th editio. China: Churchill Livingstone.
- Sansare, K, A Gupta, V Khanna, and F Karjodkar. 2011. "Oral Tuberculosis: Unusual Radiographic Findings." *The British Institute of Radiology* 40 (4).
- Seeley, R O D R, Trent D Stephens, Christine M Eckel, and Jennifer L Regan. 2008. *Anatomy and Physiology*. 8th ed. New York: McGraw Hill Education.

- Shenai, Shubhada, Danielle Amisano, Katharina Ronacher, Magdalena Kriel, Padmapriya P Banada, Taeksun Song, Myungsun Lee, et al. 2013. "Exploring Alternative Biomaterials for Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis in HIV-Negative Patients by Use of the GeneXpert MTB / RIF Assay." *Journal of Clinical Microbiology* 51 (12): 4161–66. doi:10.1128/JCM.01743-13.
- Squier, C a, and M J Kremer. 2001. "Biology of Oral Mucosa and Esophagus." *Journal of the National Cancer Institute. Monographs* 52242: 7–15. doi:10.1093/oxfordjournals.jncimonographs.a003443.
- Squier, Christopher, and K I M a Brogden. 2011. *Human Oral Mucosa*. West Sussex: Wiley-Blackwell.
- Stinson, K W, K Eisenach, S Kayes, M Matsumoto, S Siddiqi, S Nakashima, H Hashizume, et al. 2014. *Mycobacteriology Laboratory Manual Editor, 1st Ed*. japan: Global Laboratory Initiative.
- Varaine, Francis, and Michael L Rich. 2014. *Tuberculosis: Practical Guide for Clinicians, Nurses, Laboratory Technicians, and Medical Auxiliaries*. Paris: Medecins Sans Frontieres Partner in Health.
- WHO. 2016. "Global Tuberculosis Report 2016." Switzerland.
- Wood, Rachel C, Angelique K Luabeya, Kris M Weigel, Alicia K Wilbur, Lisa Jones-engel, Mark Hatherill, and Gerard A Cangelosi. 2015. "Detection of Mycobacterium Tuberculosis DNA on the Oral Mucosa of Tuberculosis Patients." *Scientific Reports*, 1–5. doi:10.1038/srep08668.
- Yassen, Gassan, Jamal Noori, and Nadia Sabri Yas. 2012. "Detection of Acid Fast Bacilli in the Saliva of Patients Having Pulmonary Tuberculosis." *J Bagh Coll Dentistry* 24 (3): 59–62.
- Zarco, M F, T J Vess, and G S Ginsburg. 2012. "The Oral Microbiome in Health and Disease and the Potential Impact on Personalized Dental Medicine." *Oral Diseases* 18: 109–20. doi:10.1111/j.1601-0825.2011.01851.x.



Lampiran 1

PENJELASAN PENELITIAN UNTUK DISETUJUI

Lembar Penjelasan

Kami: Reiska Kumala Bakti, Priyo Hadi, Bagus Soebadi, dan Diah Savitri yang sedang melakukan penelitian:

1. Penelitian ini berjudul: Validitas Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada Mukosa Rongga Mulut Pasien Terduga Tuberkulosis Paru
2. Tujuan dari penelitian ini adalah Membuktikan bahwa metode deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada swabbing mukosa bukal rongga mulut pasien terduga tuberkulosis paru memiliki validitas yang tinggi sebagai penegakan diagnosis tuberkulosis paru.
3. Manfaat dari penelitian ini adalah mendapatkan bukti ilmiah bahwa metode deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada swabbing mukosa bukal rongga mulut pasien terduga tuberkulosis paru dapat diaplikasikan untuk penegakan diagnosis tuberkulosis paru.
4. Manfaat bagi responden adalah subyek mendapatkan pemeriksaan kesehatan gigi dan mulut, berhubungan dengan penyakit tuberkulosis yang dapat menyebar ke rongga mulut dan menimbulkan sariawan yang menetap. Dengan demikian, penderita tuberkulosis yang mengalami kelainan rongga mulut akibat infeksi tuberkulosis akan dirujuk ke poli gigi Rumah Sakit Universitas Airlangga atau Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Airlangga untuk mendapatkan perawatan kesehatan gigi dan mulut.
5. Kegiatan penelitian ini dilaksanakan mulai Bulan Maret 2018 sampai Mei 2018. Subyek penelitian adalah pasien terduga tuberkulosis paru di puskesmas di Kota Surabaya.
6. Subyek penelitian adalah pasien terduga tuberkulosis paru di puskesmas di Kota Surabaya. Prosedur yang akan dilakukan meliputi pemeriksaan dan pengambilan sampel dari rongga mulut.
7. Kemungkinan resiko karena perlakuan penelitian adalah ketidaknyamanan yang ditimbulkan ketika prosedur pengambilan sampel dari rongga mulut dan untuk menjaga kerahasiaan informasi diantisipasi dengan individu dan dokumen dirahasiakan.
8. Jika subyek penelitian memerlukan informasi lebih lanjut dapat menghubungi peneliti, yaitu Reiska Kumala Bakti, drg (08563227155), Priyo Hadi (0818588483)
9. Respek
 - a. Keikutan subyek dalam penelitian adalah atas dasar sukarela
 - b. Peneliti akan merahasiakan identitas, data dan semua informasi yang berkaitan dengan keikutsertaan subyek terhadap orang yang tidak berhak.
 - c. Subyek berhak untuk mengundurkan diri setiap saat dari keikutsertaannya dalam penelitian
10. Keadilan
Kepada semua responden diberikan perlindungan dan perlakuan yang sama

Surabaya, 2018

Yang mendapatkan penjelasan
Subyek /Yang Mewakili Subyek

Yang memberi penjelasan
Ketua Peneliti/Peneliti

(.....)

(.....)

Saksi

(.....)

Catatan_: *Penjelasan ditulis dan disampaikan dengan bahasa dan cara yang dapat dengan mudah dipahami/dimengerti oleh subyek/ yang diberi penjelasan.*

Lampiran 2**PERSETUJUAN TINDAKAN PENELITIAN****Lembar Persetujuan Menjadi Responden***(Informed Consent)*

Setelah mendapatkan penjelasan yang telah saya mengerti dan pahami dengan baik, saya:

Nama :

Usia :

Alamat :

No HP :

Bahwa saya menyatakan setuju dengan sukarela tanpa paksaan jika saya ikut berperan sebagai subyek dalam penelitian yang berjudul:

**Validitas Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada Mukosa Rongga Mulut Pasien
Terduga Tuberkulosis Paru**

Demikian persetujuan ini saya buat dengan penuh kesadaran

Surabaya,2018

Yang membuat persetujuan

Yang memberi penjelasan

(.....)

(.....)

Lampiran 3

SERTIFIKAT ETIK PENELITIAN DARI KOMITE ETIK RSUD DR. SOETOMO

F.LITR.003



KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN
RSUD Dr. SOETOMO SURABAYA



RSUD Dr. SOETOMO

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
(" ETHICAL CLEARANCE ")

446 / Panke.KKE/ VII / 2017

KOMITE ETIK RSUD Dr. SOETOMO SURABAYA TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN JUDUL :

" Validitas Deteksi Mycobacterium Tuberculosis pada Mukosa Rongga Mulut Pasien
Tuberkulosis Paru "

PENELITI UTAMA : Prof. Dr. Ni Made Mertaniasih, dr., MS, Sp.MK (K)

PENELITI LAIN : 1. Prof. Dr. Diah Savitri Ernawati, drg, M.Si, Sp.PM
2. Dr. Soedarsono, dr., Sp.P (K)
3. Reiska Kumala Bakti

UNIT/ LEMBAGA/ TEMPAT PENELITIAN : RSUD Dr. Soetomo Surabaya

DINYATAKAN LAIK ETIK

SURABAYA, 24 JUL 2017



(Dr. Elieus Hanindito, dr., Sp.An, KIC,KAP)
NIP. 19511007 197903 1 002

Lampiran 4**Personalia Pelaksana Penelitian****Ketua Peneliti**

1	Nama Lengkap dengan gelar	Priyo Hadi, drg., MS., SpPM (K)
2	Jenis kelamin	Laki-laki
3	Jabatan fungsional	Dosen
4	NIP/NIK/Identitas lainnya	19540211 198003 1 002
5	NIDN	0011025404
6	Tempat tanggal lahir	Ngawi, 11 Februari 1954
7	Email	priyohadi100@gmail.com
8	Nomor tlp/HP	0818588483
9	Alamat kantor	Jl. Mayjen Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya
10	No tlp/fax	031-5030255/031-5020256

Anggota Peneliti

1	Nama Lengkap dengan gelar	Bagus Soebadi, drg., MHPEd., SpPM (K)
2	Jenis kelamin	Laki-laki
3	Jabatan fungsional	Dosen
4	NIP/NIK/Identitas lainnya	19531112 197901 1 001
5	NIDN	0014105303
6	Tempat tanggal lahir	Tabanan-Bali, 12 November 1953
7	Email	b.soebadi@gmail.com
8	Nomor tlp/HP	0811335283
9	Alamat kantor	Jl. Mayjen Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya
10	No tlp/fax	031-5030255/031-5020256

Lampiran 5

DRAFT ARTIKEL PUBLIKASI ILMIAH

The Role of *Mycobacterium Tuberculosis* Detection on Oral Mucosa in Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis

Reiska Kumala Bakti¹, Priyo Hadi¹, Bagus Soebadi¹, Diah Savitri E¹, Ni Made Mertaniasih²

¹Department of Oral Medicine, Faculty of Dental Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya
- Indonesia

² Department of Clinical Microbiology, Faculty of Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya
- Indonesia

Abstract

Background. Tuberculosis is one of the world's health problems, with larger mortality rate than HIV / AIDS. In order to control this disease, a new, and inexpensive diagnostic method is needed. Oral samples, such as buccal mucosa epithelium can be an alternative specimens, other than sputum, in diagnosis of tuberculosis. **Purpose.** This study aimed to analyze the presence of *Mycobacterium tuberculosis* on buccal swabbing of tuberculosis patients. **Method.** Study was conducted on 18 new pulmonary tuberculosis patients in TB DOTS unit of Dr. Soetomo General Hospital. Each subject was swabbed on the buccal mucosa of the oral cavity for subsequent examination of PCR, AFB, and culture to detect *Mycobacterium tuberculosis* in the oral cavity. **Result.** The results showed that *Mycobacterium tuberculosis* was detected from 2 study subjects (11%) using PCR, whereas in AFB and culture examination methods no *Mycobacterium tuberculosis* was detected on buccal mucosa of the oral cavity. **Conclusion.** This study showed that *Mycobacterium tuberculosis* was detected on buccal mucosa swab of tuberculosis patients based on PCR technique, but this method is less suitable in diagnosis of pulmonary tuberculosis.

Keywords: Tuberculosis, oral, *Mycobacterium tuberculosis*, swab.

Introduction

Tuberculosis (TB) is an infectious disease which is one of the world's health problems with larger affects on mortality than HIV / AIDS. WHO estimates that in 2016, there were 10.4 million new cases of TB, consequently resulted in the death of 1.6 million people worldwide. Indonesia is one of countries that contribute to more than half of TB cases (56%) in the world.(1) TB control measures in the form of the DOTS (Directly Observed Treatment Short Course) strategy have been implemented in many countries, also Indonesia, since 1995. One of the main pillars of the strategy is the integration of patient-centered TB services and TB prevention efforts, including the early diagnosis of TB (2).

The tuberculosis diagnostic method currently used for 15 years of implementation and expansion of the DOTS TB strategy program is AFB (Acid Fast Bacilli) in direct smear sputum. This bacteriological examination that identify the presence of *Mycobacterium tuberculosis* is very important in the diagnosis of TB, but this test only has a sensitivity ranging from 20 to 65%(2)(3)(4). It shows that a new, simple, and inexpensive diagnostic method in tuberculosis cases detection are still needed. Increased in early detection of TB will reduce morbidity, mortality, and infection transmission risk.

Several studies have been conducted to obtain alternative specimens other than sputum in the diagnosis of TB since high quality sputum as main specimen are not easily collected, especially from children and HIV/AIDS patients. Cultural factors could affect the ability in collecting good sputum sample (5). Its viscosity also affect the sensitivity, by increasing heterogeneity of sample, cost, and worker in examination (6). Those samples that had been tried as alternative specimens in TB diagnosis include exhaled breath condensate (EBC), blood, urine, saliva, and oral samples including mouth rinse, saliva, dental plaque, and oral buccal mucosal epithelium(5)(6)(7)(8). The buccal mucosal swab tends to have uniform volume and composition, allowing a simpler and cheaper diagnostic approach, particularly as a point of care check application.

Detection of *M. tuberculosis* in oral cavity is associated with TB characteristics that may also lead to manifestations in the oral cavity, either as primary or secondary tuberculosis, commonly called as oral tuberculosis, ranging from 0.05 to 5% of total cases of patients tuberculosis(9).

This study aimed to analyze the presence of *Mycobacterium tuberculosis* in swabbing oral mucosa of the oral cavity of tuberculosis patients based on PCR technique.

Methods

This study was held in TB DOTS outpatient unit of Dr. Soetomo General Hospital on July 2017– January 2018. Ethical clearance of this study was issued by Dr. Soetomo General Hospital Ethical Committee No. 446/Panke.KKE/VII/2017. A total 18 subjects consented to participate in this study, and their age ranged between 18 – 66 years old. The participants consisted of 10 males and 8 females. TB patients were diagnosed by pulmonologist at the pulmonary outpatient unit of Dr. Soetomo General Hospital using clinical symptoms assessment and supporting examination, including bacteriological and radiographic examination. All subjects were patients who just had positive pulmonary tuberculosis diagnosis (no more than 7 days of diagnosis) and haven't received any antituberculosis treatment. Each subject received sampling on the oral mucosa of the oral cavity for subsequent examination of PCR, AFB, and culture, to prove detection of *Mycobacterium tuberculosis* in the oral cavity.

Swab specimens were collected from buccal mucosa of subjects using three different cytobrush stick immediately after a positive diagnosis, and under standardized conditions, at least after 1 hour eating and oral hygiene procedures. The swabs were brushed along the inside of the subject's cheek for about 10 seconds (7–8 times) to collect specimen in uniform volume and composition. Each swabs then distributed to glass slides for direct smear, put into two conical tubes, each tube was containing middlebrook 7H9 and phosphate saline buffer.

Swabs of buccal mucosa obtained then smeared onto the glass objects that had been labeled. Fixation of the slides was done by heating above flame from Bunsen burner three to five times for 4 seconds. The slides were then poured Carbol fuchsin 3% on the entire surface, then heated on the flame until the smoke appeared but not boiling or dry, for 5 minutes. The slides were allowed to cool for 5 to 7 minutes and longer. The slides were flooded with 3% alcoholic acid solution (hydrochloric acid - ethanol), and left for 2 to 4 minutes. The acid-alcohol was washed off with distilled water and the slides were tilted to drain. The slides were flooded with methylene blue, stand for 1-2 minute. The methylene blue was washed off with distilled water and the slides tilted to drain(10). The slides were then examined under microscope with 1000x for the presence of acid fast bacilli.

Deep swabbing that was put in a sterile conical tube containing approximately 3 mL of melting liquid Media Middlebrook 7H9 then incubated in a CO₂ incubator for 1 week. The samples were then decontaminated prior to culture examination. The initial phase of decontamination was centrifugating samples at 4000 rpm for 15 minutes. The supernatant was then discarded, and 4% NaOH was added at a ratio of 1: 2. The sample was then vortexed back and left in room temperature for 10 minutes. Samples were recentrifugated at 4000 rpm for 15

minutes. The sample was left for 10 minutes and the supernatant was discarded. The washing was then done twice, by adding 10 ml of distilled water. Centrifugation at 4000 rpm for 15 minutes was performed once more, and the sample was left at room temperature for 10 minutes to wait for the aerosol to fall. Once the decontamination was done, supernatant was discarded, and the samples could be inoculated onto Middlebrok 7H10 agar, then incubated at 37° C, 10% CO₂ dan 90% air atmosphere. Bacterial colony was observed once a week in 3 – 5 weeks. Identification was done by Ziehl Neelsen staining and niacin test (10).

Polymerase Chain Reaction technique was initiated by DNA isolation using DNeasy kit (QIAGEN). Amplification DNA region of *gyrB* gene *Mycobacterium tuberculosis* was conducted for gene target 500-bp of *gyrB*. The suspension of PCR mix Dream Taq “ Green PCR Master Mix (Fermentas) was added by primer target 500-bp region as is MTUB-f and MTUB-r each 1 Iµl, and DNA template 5µl, reaction volume 25µl. Amplification reaction is 94° C 2 minutes; 94° C 20 seconds; 54.3° C 10 seconds; 72° C 30 seconds; and 72° C 5 minutes; and the reaction 35 cycles. *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv was used as positive control, whereas aquades was used negative control.

Examination results data of buccal swab were compared to sputum smear examination data from medical record. Measuring agreement of new technique with the established diagnostic method performed by calculating concordance, subsequently analyzed using Cohen’s Kappa with value reference below.

Table 1. Categorization of Cohen’s Kappa value (11)

K _k value	Quality of agreement
<0.20	Poor
0.21 – 0.40	Fairy
0.41 – 0.60	Moderate
0.61 – 0.80	Good
0.81 – 1.0	Very good

Result

Based on medical record, among 18 subjects, there were 6 patients with negative result of acid fast bacilli sputum smear examination. Twelve subjects showed positive result of acid fast bacilli presence on sputum specimens. Thorax radiography results were available for 9 from 18 subjects (50%), of which 6 (67%) results showed lungs fibroinfiltrate and one (11%) showed pulmonary TB with tuberculoma. Four patients had type 2 Diabetes Mellitus as

comorbid disease, but HIV status of all subjects were unknown. The results showed there was not any *Mycobacterium tuberculosis* detected on buccal mucosa using Ziehl neelsen staining, but 2 samples (11%) showed 500bp white band as positive control, considered as *Mycobacterium tuberculosis* DNA detection on buccal swab using PCR. Culture examination did not show any *Mycobacterium tuberculosis* growth either.

Table 2. Concordance of three methods of buccal swabs relative to sputum smear examination

Swab Result	No. of patients with AFB on sputum result		Concordance (%) = True Positive + True Negative	
	Positive	Negative	True Positive	True Negative
AFB			0%	33.3%
Positive	0	0		
Negative	12	6		
Culture			0%	33.3%
Positive	0	0		
Negative	12	6		
PCR			5.5%	27.8%
Positive	1	1		
Negative	11	5		

The concordance percentage of three examination methods of buccal swabs relative to sputum smear examination valued same, that was 33% (Table 1). Cohen's Kappa calculation resulted 0, 0, and -0.06 for each AFB, culture, and PCR examination.

Discussion

Tuberculosis as an infectious disease is transmitted by droplet nuclei. Tuberculosis primarily occurs on lungs, but, it also affects other organs, such as joints, meninges, bones, oral cavity, and called as extrapulmonary tuberculosis. Tuberculosis that occurs on oral cavity known as oral tuberculosis, but its occurrence is very rare, about 0.5 – 1% worldwide(12)(13).

Kakisi suggested that oral tuberculosis lesion mostly found on buccal mucosa or vertribulum oris of head and neck tuberculosis patients from 1991 to 2007. Primary oral tuberculosis could be developed, although less common, and predominantly occurs on gingiva

or buccal mucosa (14). Other intraoral sites that could be affected including salivary glands, tonsils, uvulae, and mandibular ridges (15).

Naturally, infectious agents in sputum carried away into oral cavity while coughing. The bacilli then deposited on saliva, lip, buccal, and gingival mucosa. They also could reside on gingival pockets, since it is a favorable site for microorganism growth as it has low oxygen pressure(12)(14)(16). Deposited *Mycobacterium tuberculosis* on mucosal surface then multiplies, and result destruction of the mucosa as oral tuberculosis development (17)(18).

Some previous studies suggested that *Mycobacterium tuberculosis* had been detected on oral cavity of pulmonary tuberculosis patients. Study that was performed by Eguchi (2003) showed that *Mycobacterium tuberculosis* DNA had present on caries lesion, dental plaque, saliva, dan denture plaque, with sensitivity ranged from 89% - 100%, whereas culture of these samples showed sensitivity about 0 – 17.3% (19). Davis (2009) suggested that among 37 patients with negative sputum smear, sensitivity of Mtb DNA detection of oral wash sample was 63%, and the sensitivity of DNA detection of sputum sample was 100%. At the same time, among 63 smear positive results, sensitivity of *Mycobacterium tuberculosis* DNA detection of oral wash sample was 80%, and the sensitivity of DNA detection was 98% (8). Another study stated that *Mycobacterium tuberculosis* DNA was detected on 92% and 68% of saliva and dental plaque samples (16), whereas study in Iraq suggested that sensitivity of saliva direct smear was 60% (7). Recent study performed by Wood, suggested that *Mycobacterium tuberculosis* DNA was detected on buccal swabs of 18 from 20 pulmonary tuberculosis patients (6).

Oral samples, such as saliva and swabs, considered as sample which has easy, simple and non invasive procedure to collect with minimal discomfort. They also could be obtained in smaller and more uniform volume and composition. Consideration of oral mucosa swab selection was because naturally *Mycobacterium* species tends to be associated with surfaces than fluid matrices (5)(6).

In this study, there were two subjects with *Mycobacterium tuberculosis* findings on buccal mucosal swab based on Polymerase Chain Reaction method. On the other hand, both direct smear staining and culture examination could not detect any acid fast bacilli on buccal mucosa swab of 18 subjects. This indicates that *Mycobacterium tuberculosis* can be found in the oral cavity of tuberculosis patients, but adequate local defense of oral cavity results in rare occurrence of oral tuberculosis. They include antibacterial function against *Mycobacterium tuberculosis* of oral normal flora growth and components of saliva. On the other hand, continuous salivary flows mechanically prevent attachment of both living and fragments of

bacilli on oral mucosa. Beside, continuous oral mucosa epithelial regeneration prevent these microorganisms either(19)(20)(21).

Regarding to oral normal flora, presence of *Mycobacterium tuberculosis* on oral cavity also could be associated with oral hygiene status of the subjects. A study suggested that there were microbiome difference between saliva of individual with active caries and without caries. Microbiome in oral cavity of individual with active caries is more varied than in healthy one. However, there were no specific microorganism in oral cavity of active caries individu that would not be able to detected in healthy individual, and vice versa. *Prevotella* spp mostly found in both groups, but there was difference between its species distribution (3). Some bacteria such as *A. naeslundii*, *P. gingivalis*, and *F. nucleatum* suggested inhibit *M. tuberculosis* in oral cavity (19).

Supporting examination that was performed to determine tuberculosis diagnosis in this study was thorax radiography examination. One subject who had positive result on Mtb DNA detection showed tuberculoma, multiple non suspicious lymphnodes supraclavicula, paraaorta, prevascular, upper paratrachea, lower para trachea, subcarina, peribronkial and paracardial fibroinfiltrate. Another subject showed paracardial fibroinfiltrate, which located in lower lungs. The subject was diabetes mellitus patient, and Singh (2011) stated that thorax radiography of pulmonary tuberculosis patient was affected by some factors, such as disease duration and immunity status. Pulmonary tuberculosis with diabetes mellitus tends to affect lower lung than without diabetes mellitus one which affect upper lung (22).

Assesment of *Mycobacterium tuberculosis* detection role was performed by concordance anylisis relative to sputum direct smear examination. This diagnostic method currently used for 15 years of implementation and expansion of the DOTS TB strategy program, but this test has a sensitivity ranging from 20 to 65% (2)(3)(4). Three examination method of buccal swab samples resulted same concordance value, that was 33%. Concordance analysis was performed by Cohen's Kappa calculation relative to sputum direct smear examination, Cohen's Kappa is representative to quality of agreement of two compared different method, ranged from -1 to 1, and resulted -0.06, 0, and 0 for each PCR, AFB, and culture examination. In this study, Cohen's Kappa value of these three methods against the sputum direct smear examination results are in the poor category, so it can be mentioned that the role of *Mycobacterium tuberculosis* detection in the buccal mucosal swab of tuberculosis patients is a less suitable method as the diagnostic approach of pulmonary tuberculosis.

However, this study showed that the PCR method can detect *Mycobacterium tuberculosis* in the oral cavity, although rarely. Some patients who are infected with tuberculosis may come to the dentist for oral health care, but do not know / recognize the signs and symptoms of tuberculosis in the individual patient, so there is the possibility of transmission of *Mycobacterium tuberculosis* infection through aerosols produced by dental instruments. This method might be possible to be used in the future as a method of screening microorganisms in the oral cavity as part of prophylactic action of transmission of tuberculosis infection in the dental and oral health services. On the other hand, oral health care workers should still be careful and always use standard precaution in performing dental and oral health care.

UNIVERSITAS AIRLANGGA
NOVEMBER 2018

DIRIAVAI OLEH:
DIREKTORAT RISET DAN PENGABDIAN MASYARAKAT
DIREKTORAT JENDERAL PENGUATAN RISET DAN PENGEMBANGAN
KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
SESUAI DENGAN PERJANJIAN PENDANAAN PENELITIAN DAN PENGABDIAN
KEPADA MASYARAKAT
NOMOR: 122/SP2H/PTNBH/DRPM/2018

0011025404
0014105303

Priyo Hadi, drg., M.S., Sp.PM.(K)
Bagus Soebadi, drg., MHPed., Sp.PM.(K)

VALIDITAS DETEKSI MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS PADA
MUKOSA RONGGA MULUT PASIEN TUBERKULOSIS PARU
TAHUN KE - 1 DARI RENCANA 2 TAHUN



BERKAS SEMINAR HASIL
PENELITIAN DASAR UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
(PDUPT)

ARTIKEL ILMIAH

Oral Lesion in Tuberculosis Patients

Reiska Kumala Bakti¹, Priyo Hadi¹, Bagus Soebadi¹, Diah Savitri Ernawati¹, Ni Made Mertaniasih²

¹ Departement of Oral Medicine, Faculty of Dental Medicine, Universitas Airlangga

² Departement of Clinical Microbiology, Faculty of Medicine, Universitas Airlangga

Abstract

Introduction. Tuberculosis is one of global most deadly infectious disease. Predominantly affects lungs, tuberculosis also could occur on other site of body, such as oral cavity. Oral manifestation of tuberculosis incidence about 0.05 – 5%. Although its occurrence is rare, but oral tuberculosis is still being challenging issue because of its non-specific clinical presentation. The aims of this study was to observe and identify the oral lesions of tuberculosis patients. **Methods.** This is a cross-sectional study. Oral cavity examination was performed to assess oral lesions appearance of each patient. **Result.** Out of 30 cases of pulmonary tuberculosis patients examined, there was 29 oral lesions were identified on tongue. One subject had suspected oral tubercular lesion, four ones had candidal infection related lesion. Most lesions were classified as normal variants lesion of oral mucosa, and coated tongue was one with the largest number. Tongue, as part of oral cavity, often affected by systemic condition. **Conclusion.** Most subjects had oral lesions, however oral tuberculosis incidence is still rare. Some lesions may be asymptomatic, thus dentist do have a role in early diagnosis of lesions for a further management.

Keywords: oral lesion, oral tuberculosis, tuberculosis

Introduction

Stated as Captain of the men of death by John Bunyan and as White Plague by Oliver Wendell Holmes in the 18th century, tuberculosis persist to be one of most deadly infectious disease worldwide. In 2016, approximately 1.3 million HIV-negative people dead because of tuberculosis, and there were an additional 374 thousands deaths among HIV-positive people. Indonesia was the second largest number of TB cases after India, then followed by China, Philippines, and Pakistan, which together accounted for more than half global TB cases in 2016. ^{1,2} Poor hygiene conditions and HIV/AIDS case escalation are considered to be associated with tuberculosis number step up in developing countries.³

Tuberculosis predominantly affects lungs, and categorized as pulmonary TB. On the other hand, it could occur on other site of body, such as joints, meninges, bones, lymph nodes, etc, and categorized as extrapulmonary TB. Oral cavity could be one of body sites that is affected by tuberculosis, however, around 0.05 – 5% of total tuberculosis cases³. Oral tuberculosis lesions could be primary or secondary tuberculosis. There were several oral lesion of tuberculosis reported, and their clinical presentations were varied, such as oral ulcer, nodules, tuberculomas, periapical granulomas lesions, or even gingival, periodontal, and osteomyelitis tuberculosis; could be both painful or painless.⁴⁻⁶

Because of this non-specific clinical presentation, oral lesion of tuberculosis could be overlooked in its differential diagnosis, moreover, when the onset of oral lesions precedes the systemic signs and symptoms. As the result, it could lead to be misdiagnosed. It is suggested that dentists have an important role in early detection of oral tuberculosis lesions, so that prompt management could be undertaken. The aims of this study was to observe and identify the oral lesions, both tubercular and non-tubercular lesions of pulmonary tuberculosis patients.

Methods

This is a cross-sectional study. This study was done on 30 pulmonary tuberculosis patients, both old and new cases of tuberculosis outpatient unit at Dr. Soetomo General Hospital. Tuberculosis diagnosis information, including clinical symptoms assessment and supportive examination result, was collected from medical record of subjects, whereas, all subjects had consented that oral cavity examination would be performed to assess oral lesions appearance of each patient. This study mainly relied on clinical appearance, and associated details of oral tubercular lesions description in previous literature in authoritative textbooks and journals. Any suspected tuberculosis related oral lesion subsequently would be swabbed using disposable cotton stick to detect any *Mycobacterium tuberculosis* presence as bacteriological examination. *Mycobacterium tuberculosis* detection was performed by Ziehl Neelsen and culture examination. Ethical clearance of this study was issued by Dr. Soetomo General Hospital Ethical Committee.

Results

Out of 30 cases of pulmonary tuberculosis patients examined, there was 29 oral lesions were identified on tongue. Coated tongue was the most common case, which was 14 cases. The second most identified case was crenated tongue, as many as 5 cases. Three tuberculosis cases had fissured tongue, three cases had linea alba buccalis, two cases had Fordyce's spots, two

cases had oral candidiasis, one case had scrotal tongue, one case had median rhomboid glossitis, one case had cheilosis, one case had angular cheilitis, one case had ankyloglossia, one case had smoker's melanosis, one case had glossitis, and one case had oral ulcer (Figure 1).

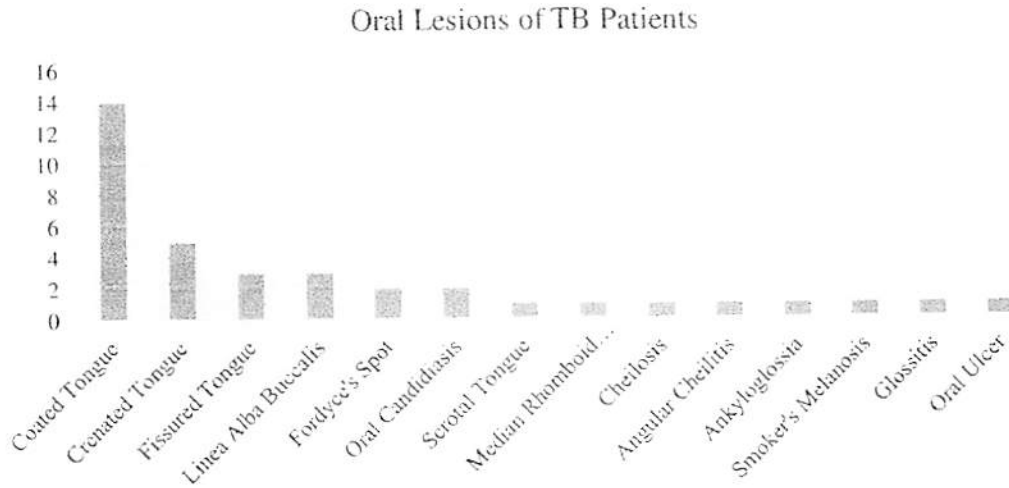


Figure 1. Oral Lesion Presented Distribution. Most lesions usually present in normal (nontuberculosis) group.

Discussion

Oral lesion of tuberculosis, as known as oral tuberculosis are uncommon condition, approximately 0.5 – 5% of patients that suffering tuberculosis.³ Its appearance is still being an important and challenging issue, since it could be overlooked, subsequently, there would be a further spread of *Mycobacterium tuberculosis* due to delay of appropriate treatment. Oral tubercular lesion could present at any location on oral mucosa, but tongue is the most common site affected.⁴ Oral tuberculosis could present in various form, ranging from both painless and painful ulcer, patches, indurated soft tissue lesion, or even osteomyelitis on jaws⁷. Oral tuberculosis could be both primary or secondary. Oral tuberculosis as primary form usually present as single painless ulcer and accompanied by regional (submandibular, submental, and cervical) lymph node enlargement. This form usually occur in younger patients, such as children. On the other hand, secondary form of oral tuberculosis commonly present in middle-aged and elderly patients as irregular painful ulcers with induration and covered by inflammatory exudates.^{4,8} Some oral tuberculosis lesion were reported to be present as gingival enlargement with or without any periodontal involvement, instead of ulcer as common manifestation.^{5,9,10}

In this study, one lesion was considered related to tuberculosis. there was single, irregular, yellowish, and painless ulcer on ventral of tongue, approximately 2 x 1 cm², with irregular border and granulomatous surface (Figure 2). Lesion then was swabbed to identify presence of *Mycobacterium tuberculosis* using Ziehl Neelsen and culture examination. These examinations resulted that there was no *Mycobacterium tuberculosis* detected. Selvamuthukumar (2011) suggested that TB organism culture from suspected oral lesion in TB patient cannot be considered as diagnostic tools of the lesion, since sputum and saliva may harbor the microorganism and resulting bias while the oral lesion is not tuberculous in origin. On the other hand, viable acid-fast microorganism might be undetected because of oral cavity washing in tuberculosis patient. Definitive diagnosis should be determined from matching between clinical appearance of lesion and histopathological tissue examination result.¹¹ Jan et al (2014) supported previous study that sputum-based test was unsuitable for diagnosis of extrapulmonary tuberculosis; in this issue is oral tuberculosis, and DNA amplification might be highly useful for detecting tuberculosis microorganism in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue biopsies.¹⁰ In this study, we didn't conduct any invasive procedures such as biopsy since the patient had come for non oral health problem, and they were not willing for histopathological examination confirmation.



Figure 2. Oral ulcer on left side of tongue ventral.

Two tuberculosis cases had oral candidiasis. Subjects complained about white lesion intra orally and burning sensation over oral cavity. Based on clinical examination, lesion was appeared on palate as pain irregular erythematous patch and pseudomembrane on tongue. Oral candidiasis often considered to be one of most prevalent lesions that is related to systemic disorders, ranging from 5 – 92%.¹² The frequency of oral candidiasis as mycotic infection stepped up along with the increased number of immunosuppressive diseases, thus, it was reported as most prevalent lesion found in HIV infected people.¹³ Previous studies suggested that pulmonary tuberculosis with *Candida* co-infection prevalence is about 15-32%.¹⁴ Other study

stated that there was a strong association between oral candidiasis and TB diseases independently of CD4+ cell counts, and it was supported by another study revealed that TB and oral candidiasis were the only opportunistic infections that commonly occur among HIV adult in South Africa with CD4+ cell counts ≥ 200 cells /mm³.¹⁵

Other intra oral lesion found in this study that were reported associated to Candidal infection are median rhomboid glossitis and angular cheilitis. Median rhomboid glossitis described as a well demarcated, symmetric, depapillated area arising anterior to the circumvallate papillae, which could be both asymptomatic or symptomatic, whereas angular cheilitis could appear in various forms, ranging from small and limited rhagades at mouth corner to extended rhagades from the corner of the mouth into the adjacent skin, or as erythema of the skin contiguous with vermilion border. Other than candidal infection, both median rhomboid glossitis and angular cheilitis considered to be associated with some different predisposing factors that affects Candida multiplication as normal flora. Those factors such as smoking, denture wearing, and diabetes mellitus in median rhomboid glossitis occurrence, and hypovitaminosis, iron deficiency, age-related corner of the mouth tissue sagging, and reduced vertical dimension of occlusion in angular cheilitis one.^{16,17}

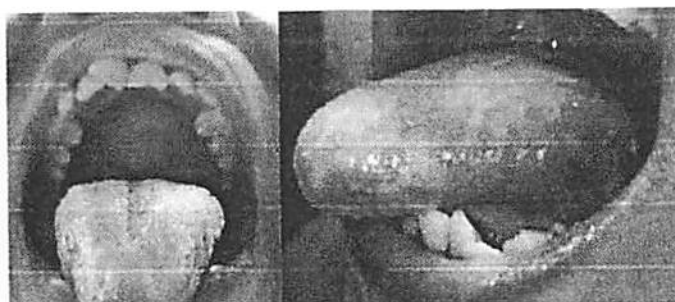


Figure 3. Oral Candidiasis on one of subject.

Coated tongue were predominant found in this study. Coated tongue is defined as pseudomembrane that covered tongue, as accumulation of epithelial cell desquamation released from oral mucosa, leukocytes from periodontal pockets, blood metabolites and different nutrients on tongue, and could result bad breath. Tongue coating considered not to associate with some diseases only, but also dietary habits, poor oral hygiene, salivary flow reduction, and drugs.¹⁸

In this study, more than half subjects had oral lesions and variation. One lesion suspected as tubercular lesion, whereas two subjects had confirmed oral candidiasis. Overall, most lesion identified in this study are lesions commonly present in normal group, or known

as normal variants of oral mucosa. Different medical conditions, such as febrile condition, dehydration, chronic renal failure, leukemia, diabetes, etc; could affect oral cavity, including the tongue^{18,19}, thus, almost 78% lesions were found on tongue.

Conclusion

Oral tuberculosis incidence is still rare. Instead of oral tubercular lesion, coated tongue were most common lesion found in tuberculosis patients. The most frequent site of lesion occurrence was tongue, and it might be related to presence of systemic disease, since systemic condition could result in oral cavity changes. Some of oral lesions were asymptomatic, thus routine oral examination is needed to facilitate diagnosis of oral lesions at early stage for a further management.

References

1. Gillespie SH, Hawkey PM. *Principles and Practice of Clinical Bacteriology*. 2nd ed. (Gillespie SH, Hawkey PM, eds.). West Sussex: John Wiley & Sons; 2006. doi:10.1002/9780470017968.
2. WHO. *Global Tuberculosis Report 2017*. Geneva; 2017.
3. Nanda KDS, Mehta A, Marwaha M, Kalra M, Nanda J. A Disguised Tuberculosis in Oral Buccal Mucosa. *Dent Res J (Isfahan)*. 2011;8(3):154-159.
4. Jain P, Jain I. Oral manifestations of tuberculosis: Step towards early diagnosis. *J Clin Diagnostic Res*. 2014;8(12):ZE18-ZE21. doi:10.7860/JCDR/2014/10080.5281.
5. Javali MA, Patil V, Ayesha H. Periodontal disease as the initial oral manifestation of abdominal tuberculosis - Europe PMC Article - Europe PubMed Central. *Dent Res J (Isfahan)*. 2012;9(5):634-637.
6. Sansare K, Gupta A, Khanna V, Karjodkar F. Oral tuberculosis: unusual radiographic findings. *Br Inst Radiol*. 2011;40(4):251-256.
7. Jain S, Vipin B, Khurana P. Gingival tuberculosis. *J Indian Soc Periodontology*. 2009;13(2):106-108.
8. Krawiecka E, Szponar E. Tuberculosis of the oral cavity: an uncommon but still a live issue. *Adv Dermatology Allergol*. 2015;32(4):302-306. doi:10.5114/pdia.2014.43284.
9. Gupta G, Khattak BP, Agrawal V. Primary gingival tuberculosis: A rare clinical entity. *Contemp Clin Dent*. 2011;2(1):31-33. doi:10.4103/0976-237X.79313.
10. Jan SM, Khan FY, Bhat MA, Behal R. Primary tuberculous gingival enlargement - A

- rare clinical entity: Case report and brief review of the literature. *J Indian Soc Periodontology*. 2014;18(5):632-636. doi:10.4103/0972-124X.142460.
11. Selvamuthukumar SC, Aswath N, Anand V. Pattern of Oral Lesions in Tuberculosis Patients : A Cross-sectional Study. *J Indian Acad Oral Med Radiol*. 2011;23(3):199-203.
 12. Gemaque K, Nascimento GG, Junqueira JLC, Araujo VC de, Furuse C. Prevalence of Oral Lesions in Hospitalized Patients with Infectious Diseases in Northern Brazil. *Sci World J*. 2014. doi:10.1155/2014/586075.
 13. Naidu GS, Thakur R, Singh AK, Rajbhandary S, Mishra RK, Sagtani A. Oral lesions and immune status of HIV infected adults from eastern Nepal. *J Clin Exp Dent*. 2013;5(1):1-7. doi:10.4317/jced.50888.
 14. Fontalvo DM, Borré GJ, Camargo DG, et al. Tuberculosis and fungal co-infection present in a previously healthy patient. *Colomb Med*. 2016;47(2):105-108.
 15. Shiboski CH, Chen H, Ghannoum MA, et al. Role of Oral Candidiasis in TB and HIV co-infection: AIDS Clinical Trial Group Protocol A5253. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2014;18(6):682-688. doi:10.5588/ijtld.13.0729.Role.
 16. Oza N, Doshi JJ. Angular cheilitis: A clinical and microbial study. *Indian J Dent Res*. 2017;28(6):661-665.
 17. Goregen M, Miloglu O, Buyukkurt MC, Caglayan F, Aktas AE. Median Rhomboid Glossitis : A Clinical and Microbiological Study. *Eur J Dent*. 2011;5(October):367-372.
 18. Panov VE, Krasteva A. TONGUE COATING IN PATIENTS WITH GASTRO-INTESTINAL AND LIVER DISEASES. *J IMAB*. 2012;18(2):188-190. doi:10.5272/jimab.2012182.188.
 19. Gaddey HL. Oral Manifestations of Systemic Disease. *Acad Gen Dent*. 2017:23-28.



Reiska Kumala <reiska91@gmail.com>

[icgh2018] Editorial Decision on Paper

messages

Yuniardini Wimardhani <mailer@ui.ac.id>
Reply-To: Yuniardini Wimardhani <juneardini@gmail.com>
To: Reiska Kumala Bakti <reiska91@gmail.com>

Sun, Oct 14, 2018 at 3:25 PM

The substantial editing on your paper have been performed. It is recommend that the paper eventually may be suitable for publication in Scopus journal however, it requires revision before it can be reconsidered.

If you are prepared to undertake the work, please consider the remarks and revise your paper accordingly. Your revised paper should be returned to the Committee.

To download the enago version, please login into your account – active submission – click on your title – select Review – Director Decision – Download file on Director Version – and finally, upload the revised manuscript.

Please submit your revised manuscript before October 22, 2018.

International Conference on Global Health (ICGH) The 3rd International
Conference on Global Health
<http://conference.ui.ac.id/icgh/icgh2018/index>

Reiska Kumala <reiska91@gmail.com>
To: juneardini@gmail.com

Fri, Oct 19, 2018 at 9:43 PM

Good evening

Thank you for the opportunity given to me. I would like to upload revision that I made, but I could not click the "choose file" neither "upload" button.
Please give some advices so I could give my revision.

Thank you.

Regards,

Reiska Kumala
[Quoted text hidden]

<http://conference.ui.ac.id/icgh/icgh2018/login>

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

<http://conference.ui.ac.id/icgh/icgh2018/login>

<http://conference.ui.ac.id/icgh/icgh2018/login> Home <http://conference.ui.ac.id/icgh/icgh2018/index> > [User](http://conference.ui.ac.id/icgh/icgh2018/user) <http://conference.ui.ac.id/icgh/icgh2018/user> > [Author](http://conference.ui.ac.id/icgh/icgh2018/author)

<http://conference.ui.ac.id/icgh/icgh2018/author> > [Submissions](http://conference.ui.ac.id/icgh/icgh2018/author) <http://conference.ui.ac.id/icgh/icgh2018/author> > #19153


<http://conference.ui.ac.id/icgh/icgh2018/author/submission/19153> > [Paper Review](http://conference.ui.ac.id/icgh/icgh2018/author/submissionReview/19153) <http://conference.ui.ac.id/icgh/icgh2018/author/submissionReview/19153>

#19153 Paper Review

SUMMARY ([HTTP://CONFERENCE.UI.AC.ID/ICGH/ICGH2018/AUTHOR/SUBMISSION/19153](http://conference.ui.ac.id/icgh/icgh2018/author/submission/19153)) REVIEW


[HTTP://CONFERENCE UI AC ID/ICGH/ICGH2018/AUTHOR/SUBMISSIONREVIEW/19153/1](http://conference.ui.ac.id/icgh/icgh2018/author/submissionReview/19153/1)

Submission

Authors Reiska Kumala Bakti  (<http://conference.ui.ac.id/icgh/icgh2018/user/email?redirectUri=http%3A%2F%2Fconference.ui.ac.id%2Ficgh%2Ficgh2018%2Fauthor%2FsubmissionReview%2F19153&to%5B%5D=%22Reiska%20Kumala%20Ba>)

Title Oral Lesion in Tuberculosis Patients

Track Dentistry Papers


Director Yuniardini Wimardhani  (<http://conference.ui.ac.id/icgh/icgh2018/user/email?redirectUri=http%3A%2F%2Fconference.ui.ac.id%2Ficgh%2Ficgh2018%2Fauthor%2FsubmissionReview%2F19153&to%5B%5D=Yuniardini%20Wimardhani%2C>)

Peer Review

Review Version	19153-34022-1-RV DOCX (HTTP://CONFERENCE UI AC ID/ICGH/ICGH2018/AUTHOR/DOWNLOADFILE/19153/34022/1) 2018-08-06
Initiated	2018-08-28
Last modified	2018-10-20
Uploaded file	None
Director Version	19153-39561-1-DR ZIP (HTTP://CONFERENCE UI AC ID/ICGH/ICGH2018/AUTHOR/DOWNLOADFILE/19153/39561/1) 2018-10-14
Author Version	19153-40139-1-DR DOCX (HTTP://CONFERENCE UI AC ID/ICGH/ICGH2018/AUTHOR/DOWNLOADFILE/19153/40139/1) 2018-10-21

Director Decision

Decision Revisions Required 2018-10-14

Notify Director  (<http://conference.ui.ac.id/icgh/icgh2018/author/emailDirectorDecisionComment?paperId=19153>) [Director/Author Email Record](#) 2018-10-14

Director Version 19153-39561-1-DR ZIP ([HTTP://CONFERENCE UI AC ID/ICGH/ICGH2018/AUTHOR/DOWNLOADFILE/19153/39561/1](http://conference.ui.ac.id/icgh/icgh2018/author/downloadfile/19153/39561/1)) 2018-10-14

Author Version 19153-40139-1-DR DOCX ([HTTP://CONFERENCE UI AC ID/ICGH/ICGH2018/AUTHOR/DOWNLOADFILE/19153/40139/1](http://conference.ui.ac.id/icgh/icgh2018/author/downloadfile/19153/40139/1)) 2018-10-21 **DELETE** ([HTTP://CONFERENCE.UI.AC.ID/ICGH/ICGH2018/AUTHOR/DELETEPAPERFILE/19153/40139/1](http://conference.ui.ac.id/icgh/icgh2018/author/deletepaperfile/19153/40139/1))

Upload Author Version No file chosen

Layout

Galley Format	FILE	VIEWS
	None	
Supplementary Files	FILE	
	None	

 (<http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>)

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 3.0 License (<http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>).

BORANG CAPAIAN LUARAN

FORMULIR EVALUASI ATAS CAPAIAN LUARAN KEGIATAN PENELITIAN

Nama : Priyo Hadi, drg., M.S., sp.PM (K)
 Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga
 Judul Penelitian : VALIDITAS DETEKSI *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* PADA MUKOSA RONGGA MULUT PASIEN TUBERKULOSIS PARU
 Waktu Penelitian : tahun ke 1 dari rencana 2 tahun

LUARAN YANG DIRENCANAKAN DAN JUMLAH CAPAIAN

No	Luaran yang Direncanakan	Jumlah Capaian
1	Publikasi Ilmiah	1

CAPAIAN DISERTAI DENGAN LAMPIRAN BUKTI – BUKTI LUARAN KEGIATAN**1. PUBLIKASI ILMIAH**

	Keterangan
Artikel Jurnal Ke-1	
Nama jurnal yang dituju	Journal of Krishna Institute of Medical Sciences University
Klasifikasi Jurnal	Internasional
Impact factor jurnal	0.786
Judul artikel	The Role of Mycobacterium Tuberculosis Detection on Oral Mucosa in Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis
Status naskah	Peer Review
Artikel Jurnal Ke-2	
Nama jurnal yang dituju	Dental Journal
Klasifikasi Jurnal	Nasional
Impact factor jurnal	
Judul artikel	Acid fast bacilli detected in the oral swab sample of a pulmonary tuberculosis patient
Status naskah	Published https://e-journal.unair.ac.id/MKG/article/view/7296

2. BUKU AJAR

	Keterangan

3. PEMBICARA PADA PERTEMUAN ILMIAH (SEMINAR/SIMPOSIUM)

	Keterangan
Pertemuan Ilmiah Ke-1	

Judul Makalah	Acid fast bacilli detected in the oral swab sample of a pulmonary tuberculosis patient
Nama Pertemuan Ilmiah	Internasional Conference on Oral Immunology and Oral Microbiology
Tempat Pelaksanaan	Balai Ungku Aziz, Faculty of Dentistry, University of Malaya
Waktu Pelaksanaan	14 – 15 Agustus 2018
Jenis Pertemuan	Konferensi Internasional
Status Naskah	Presented
Pertemuan Ilmiah Ke-1	
Judul Makalah	Oral Lesions in Tuberculosis Patients
Nama Pertemuan Ilmiah	International Conference of Global Health
Tempat Pelaksanaan	Sakala Resort, Tanjung Benoa, Bali
Waktu Pelaksanaan	15 – 16 September 2018
Jenis Pertemuan	Konferensi Internasional
Status Naskah	Presented

4. SEBAGAI INVITED SPEAKER

	Keterangan
--	------------

5. UNDANGAN SEBAGAI VISITING SCIENTIST PADA PERGURUAN TINGGI LAIN

	Keterangan
--	------------

6. CAPAIAN LUARAN LAINNYA

	Keterangan
Jenis luaran lainnya	

Surabaya, 22 – 11 – 2018

Ketua

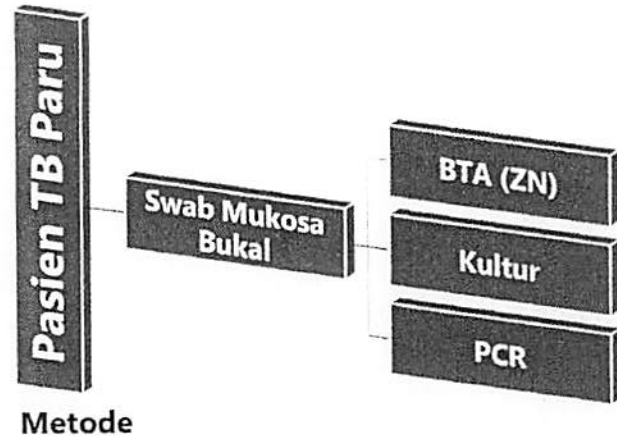


Priyo Hadi, drg., M.S., sp.PM (K)

POSTER

•Priyo Hadi,drg.,M.S.,Sp.PM.(K) 0011025404 •Bagus Soebadi,drg.,MHPEd.,Sp.PM.(K) 0014105303

Latar Belakang. Tuberkulosis (TB) merupakan masalah kesehatan dunia yang berdampak besar pada negara - negara berkembang, termasuk Indonesia. Upaya pengendalian TB telah dilakukan sejak tahun 1995, dan salah satu strateginya adalah diagnosis dini. Metode diagnosis TB yang selama implementasi program TB DOTS hingga kini adalah pemeriksaan BTA (Basi Tahan Asam), namun uji ini memiliki sensitivitas dengan rentang 20 - 65%, sehingga masih diperlukan metode diagnosis baru yang mudah, cepat, dan akurat. Beberapa penelitian dilakukan untuk mendapatkan alternatif spesimen, terkait sputum yang berkualitas baik sebagai spesimen utama penegakan diagnosis tuberkulosis tidak selalu mudah dikumpulkan dari pasien tuberkulosis paru. Swab mukosa bukal cenderung memiliki komposisi dan volume yang seragam, tidak kental, sehingga memungkinkan pendekatan diagnosis yang lebih sederhana dan murah, terutama sebagai aplikasi pemeriksaan *point of care*.



Hasil. Sensitivitas pemeriksaan *ZN* pada sputum adalah 66.7%, sedangkan sensitivitas pemeriksaan *ZN* pada swab mukosa bukal adalah 0%. Hasil pemeriksaan kultur dan PCR pada swab mukosa bukal masing - masing memberikan sensitivitas 0% dan 11%. Sensitivitas metode pemeriksaan *direct smear*, kultur, dan PCR dari swab mukosa bukal terhadap pemeriksaan *ZN* sputum masing - masing adalah 0%, 0%, dan 5.5%. Hal ini menunjukkan bahwa pemeriksaan pada sputum dapat lebih mendeteksi keberadaan *M. tuberculosis* dibandingkan dengan pemeriksaan pada swab mukosa bukal.

Simpulan. Penelitian menunjukkan bahwa *M. tuberculosis* dapat dideteksi pada pemeriksaan PCR swab mukosa bukal dari 2 subyek (11%), sedangkan pada pemeriksaan BTA dan kultur, tidak dideteksi *M. tuberculosis* pada mukosa bukal. Hal tersebut menunjukkan bahwa *M. tuberculosis* dapat ditemukan pada rongga mulut penderita tuberkulosis paru, walaupun cukup rendah.

Korespondensi: Priyo Hadi (priyohadi100@gmail.com)

Penelitian dilakukan di RSUD Dr. Soetomo, Surabaya, 7 Februari 2018.

PROFIL

VALIDITAS DETEKSI *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* PADA MUKOSA RONGGA MULUT PASIEN TUBERKULOSIS PARU



Peneliti

Priyo Hadi

Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Airlangga
priyohadi100@gmail.com

Bagus Soebadi

Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Airlangga
b.soebadi@gmail.com



Ringkasan Eksekutif

Tuberkulosis (TB) merupakan masalah kesehatan dunia yang berdampak besar pada negara - negara berkembang, termasuk Indonesia. Upaya pengendalian TB telah dilakukan sejak tahun 1995, dan salah satu strateginya adalah diagnosis dini.

Metode diagnosis TB yang selama 15 tahun implementasi program TB DOTS hingga kini adalah pemeriksaan BTA (Basi Tahan Asam), akan tetapi uji ini memiliki sensitivitas dengan rentang 20 - 65%, sehingga masih diperlukan metode diagnosis baru yang mudah, cepat, dan akurat.

Beberapa penelitian dilakukan untuk mendapatkan alternatif spesimen, seperti darah, urin, dan saliva; terkait sputum yang berkualitas baik sebagai spesimen utama penegakan diagnosis tuberkulosis tidak selalu mudah dikumpulkan dari pasien tuberkulosis paru.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Mycobacterium tuberculosis* dapat dideteksi pada pemeriksaan PCR swab mukosa bukal dari 2 subyek (11%), sedangkan pada pemeriksaan BTA dan kultur, tidak dideteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada mukosa bukal rongga mulut. Hal tersebut menunjukkan bahwa *M. tuberculosis* dapat ditemukan pada rongga mulut penderita tuberkulosis paru, walaupun cukup rendah.

Kata kunci: Swab, diagnosis, tuberkulosis, rongga mulut



HKI dan Publikasi

Acid fast bacilli detected in the oral swab sample of a pulmonary tuberculosis patient

1. Bakti, RK., Mertaniasih, NM., Ernawati, DS., Soebadi, B., and Hadi, P, 2018. "Acid fast bacilli detected in the oral swab sample of a pulmonary tuberculosis patient" *Dental Journal* 51 (2): 91 - 94



Latar Belakang

Tuberkulosis merupakan penyakit infeksi mematikan di dunia, dan Indonesia merupakan salah satu dari enam negara yang berkontribusi menyumbang kasus TB terbanyak.

Salah satu kunci pengendalian infeksi adalah memotong rantai penularan infeksi, yang didukung oleh diagnosis dini penyakit. Pemeriksaan bakteriologi untuk mengidentifikasi *M. tuberculosis* sangat penting dalam penegakan diagnosis TB. Pemeriksaan kultur bakteri sebagai baku emas diagnostik memerlukan waktu yang lama (sekitar 4 – 8 minggu) sehingga memperlambat penegakan diagnosis. Sputum yang digunakan sebagai spesimen utama diagnosis TB paru pun tidak mudah untuk didapatkan dari pasien, sehingga diperlukan penelitian mengenai metode baru diagnosis TB.

Swab mukosa bukal cenderung memiliki komposisi dan volume yang seragam, tidak kental, sehingga memungkinkan pendekatan diagnosis yang lebih sederhana dan murah, terutama sebagai aplikasi pemeriksaan *point of care*.



Metode

Tahapan penelitian meliputi pengambilan sampel di poli TB DOTS Rumah Sakit Umum Daerah Dr Soetomo yang berupa sampel rongga mulut (swab) dari pasien tuberkulosis paru baru. Sampel kemudian dilakukan pemeriksaan kultur middlebrook, *Ziehl Neelsen*, dan *Polymerase Chain Reaction*.

Hasil pemeriksaan *direct smear* dinyatakan negatif bila tidak ditemukannya bentuk batang (basil) berwarna merah dengan warna dasar biru muda di bawah mikroskop. Pemeriksaan kultur dinyatakan negatif apabila menunjukkan bahwa tidak ada pertumbuhan koloni pada media padat agar Middlebrook 7H10 setelah dilakukan inkubasi selama 3 – 5



Hasil dan Manfaat

Berdasarkan hasil pemeriksaan yang dilakukan pada subyek penelitian, didapatkan bahwa sensitivitas pemeriksaan *direct smear ZN* pada sputum adalah 66.7%, sedangkan sensitivitas pemeriksaan *direct smear Ziehl Neelsen* pada swab mukosa bukal pasien adalah 0%. Hasil pemeriksaan kultur dan PCR pada swab mukosa bukal masing – masing juga memberikan sensitivitas sebesar 0% dan 11%. Sensitivitas metode pemeriksaan *direct smear*, kultur, dan PCR dari swab mukosa bukal terhadap pemeriksaan *direct smear* sputum masing – masing adalah 0%, 0%, dan 5.5%. Hal ini menunjukkan bahwa pemeriksaan pada sputum dapat lebih mendeteksi keberadaan *M. tuberculosis* dibandingkan dengan pemeriksaan pada swab mukosa bukal.



Gambar 1. Tidak tampak ada pertumbuhan mikroorganisme pada media middlebrook 7H10 sampel

Pada penelitian ini, *M. tuberculosis* dapat dideteksi dalam rongga mulut, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada rongga mulut di Indonesia, terlebih mengenai potensi transmisi infeksi *Mycobacterium tuberculosis* dalam praktik pelayanan kesehatan gigi dan mulut sehari – hari sebagai upaya dalam pengendalian kasus tuberkulosis.