



SELESAI

LAPORAN PENELITIAN
DIK SUPLEMEN UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN ANGGARAN 2003

**UJI POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) UNTUK
MENILAI KEBIJAKAN KLINIS PENENTUAN DIAGNOSA
TUBERKULOSIS PARU DI RUMAH SAKIT DR. SOETOMO
SURABAYA**

PAMERAN

51 SEP 2005

Peneliti:

dr. Manik Retno Wahyunitisari, M.Kes.
Dr. dr Kuntaman, MS., SpMK.
dr. Bambang Susilo, SpMK.
dr. Sudarsono, SpP.
dr. Retno Budiarti

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh Dana DIK Suplemen Universitas Airlangga Tahun 2003
SK Rektor Universitas Airlangga Nomor 4624/J03/PG/2003
Tanggal 13 Juni 2003
Nomor Urut 03

4/8 05 4/1
**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Nopember, 2003

- TUBERCULOSIS
- POLYMERASE CHAIN REACTION

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

KK

KKA

616.995 075

Uji



LAPORAN PENELITIAN
DIK SUPLEMEN UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN ANGGARAN 2003

UJI POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) UNTUK MENILAI KEBIJAKAN KLINIS PENENTUAN DIAGNOSA TUBERKULOSIS PARU DI RUMAH SAKIT DR. SOETOMO SURABAYA

Peneliti:

dr. Manik Retno Wahyunitisari, M.Kes.
Dr. dr Kuntaman, MS., SpMK.
dr. Bambang Susilo, SpMK.
dr. Sudarsono, SpP.
dr. Retno Budiarti



015904141

015904141

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh Dana DIK Suplemen Universitas Airlangga Tahun 2003
SK Rektor Universitas Airlangga Nomor 4624/J03/PG/2003
Tanggal 13 Juni 2003
Nomor Urut 03

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA

November, 2003



DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
LEMBAGA PENELITIAN

- | | | |
|--|---------------------------------------|--|
| 1. Puslit Pembangunan Regional | 5. Puslit Pengembangan Gizi (5995720) | 9. Puslit Kependudukan dan Pembangunan (5995719) |
| 2. Puslit Obat Tradisional | 6. Puslit/Studi Wanita (5995722) | 10. Puslit/ Kesehatan Reproduksi |
| 3. Puslit Pengembangan Hukum (5923584) | 7. Puslit Olah Raga | |
| 4. Puslit Lingkungan Hidup (5995718) | 8. Puslit Bioenergi | |

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 5962066
E-mail : lpunair@rad.net.id - http://www.geocities.com/Athens/Olympus/6223

**IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN**

1. Judul Penelitian	: Uji Polymerase Chain Reaction (PCR) Untuk Menilai Kebijakan Klinis Penentuan Diagnosa Tuberkulosis Paru Di Rumah Sakit Dr. Soetomo Surabaya
a. Macam Penelitian	: ☐ Fundamental ☐ Terapan ☐ Pengembangan
b. Kategori Penelitian	: ☐ I ☐ II ☐ III
2. Kepala Poyek Penelitian	
a. Nama lengkap dan Gelar	: dr. Menik Retno Wahyunitisari, M.Kes.
b. Jenis kelamin	: Perempuan
c. Pangkat/Golongan dan NIP	: Penata Muda (Gol. III/a) 132 161 199
d. Jabatan Sekarang	: Staf Pengajar
e. Fakultas/Puslit/Jurusan	: Kedokteran
f. Univ/Ins./Akademi	: Universitas Airlangga
g. Bidang Ilmu yang diteliti	: Mikrobiologi
3. Jumlah Tim Peneliti	: 5 (lima) orang
4. Lokasi Penelitian	: RSUD Dr. Soetomo dan TDC Unair
5. Kerjasama dengan Instansi lain	
a. Nama Instansi	: -
b. Alamat	: -
6. Jangka waktu penelitian	: 5 Bulan
7. Biaya yang diperlukan	: 4.000.000,00
8. Seminar Hasil Penelitian	
a. Dilaksanakan Tanggal	11 Nopember 2003
b. Hasil Penelitian	() Baik Sekali (V) Baik () Sedang () Kurang

Surabaya, 11 Nopember 2003



Mengetahui/Mengesahkan
a.n. Rektor
Ketua Lembaga Penelitian,

Prof. Dr. H. Sarmanu, M.S.
NIP 130 701 125

RINGKASAN

Diagnosis tuberkulosis dapat ditegakkan dari anamnesis, pemeriksaan fisik, laboratorium dan pemeriksaan penunjang lainnya, tetapi dalam konteks diagnosis TB dalam strategi DOTS, hanya akan dibicarakan peranan pemeriksaan hapusan dahak mikroskopis langsung dan foto rontgen dada yang merupakan metode diagnosis standar. Pemeriksaan mikroskopis dengan pengecatan *Ziehl Neelsen* untuk mendeteksi BTA adalah metode yang paling cepat dan murah tetapi kurang dalam hal sensitifitas dan spesifitasnya. Kelemahan dalam hal sensitivitas yaitu hanya dapat mendeteksi *Mycobacterium* bila jumlahnya ≥ 5000 per ml dahak, sedangkan kelemahan dalam spesifitas adalah tidak dapat membedakan antara *M. tuberculosis* dengan species *mycobacterium* yang lain.

Dilain pihak membutuhkan waktu 6-8 minggu untuk mengkultur kuman *M. tuberculosis*, karena pertumbuhannya lambat, maka identifikasi spesimen dan penentuan kepekaan obat juga dapat terlambat.

Polymerase Chain Reaction (PCR), merupakan suatu metode diagnosis biologi molekuler yang mendasarkan pada deteksi fragmen DNA yang spesifik untuk kuman tertentu. Untuk itu dipergunakan primer yang spesifik terhadap mikroba yang dicari.

Penelitian ini bertujuan untuk menelaah diagnosis tuberkulosis paru berdasarkan gejala klinis, pemeriksaan mikroskopis BTA dan radiologis, dengan menggunakan uji PCR. Sehingga dapat diketahui seberapa banyak penderita yang dinyatakan tuberkulosis dengan BTA negatif dan hasil rontgen positif, yang memberikan hasil positif dengan PCR., dan seberapa banyak pula penderita yang dinyatakan bukan tuberkulosis dengan BTA negatif dan hasil rontgen negatif, yang memberikan hasil positif dengan PCR.

Dilakukan pengambilan sampel di Instalasi Rawat Jalan Paru RSUD Dr Soetomo Surabaya selama kurang lebih 3 bulan (Februari – Mei 2003), setiap penderita yang memenuhi kriteria penerimaan sampel telah diperiksa oleh klinisi dan kemudian didiagnosis sebagai Suspek Tuberkulosis Paru. Setelah itu dilakukan pemeriksaan dahak secara mikroskopis dengan pewarnaan *Ziehl Neelsen* (pemeriksaan kuman BTA) sebanyak 3 kali berturut turut (Sewaktu – Pagi - Sewaktu) serta pemeriksaan foto rontgen dada pada masing masing penderita. Dari penderita Suspek Tuberkulosis tersebut, diambil sebanyak 40 penderita dengan hasil pemeriksaan BTA yang negatif (yakni SPS +,-, atau -,-) sebagai sampel, kemudian dari keseluruhan sampel yang telah terkumpul tersebut diperiksa sisa sputumnya dengan PCR.

Hasil yang didapatkan setelah dilakukan pembagian penderita berdasar hasil pemeriksaan rontgen, yakni penderita dengan hasil rontgen positif yang terdiagnosis tuberkulosis paru dan penderita dengan hasil rontgen negatif yang tidak terdiagnosis tuberkulosis paru, ternyata menunjukkan gambaran yang berbeda. Pada sampel dengan hasil rontgen negatif sebanyak 24 penderita, 8 orang diantaranya hasil PCR nya positif (33,33%), dan dari sampel dengan hasil rontgen positif sebanyak 16 sampel, sebanyak 15 sampel tetap positif setelah diperiksa dengan PCR (93,75%).

Dapat dilihat bahwa dari 40 sampel BTA negatif sebelum dilakukan pemeriksaan PCR, terdapat 16 sampel (40%) yang terdiagnosis TB Paru berdasarkan hasil rontgen yang mendukung. Setelah dilakukan pemeriksaan PCR terdapat penambahan sampel

yang positif dengan PCR sebanyak 8 penderita (20%) sehingga jumlah penderita terdiagnosis TB paru menjadi 24 (60%).

Kelompok BTA negatif rontgen negatif adalah kelompok yang tidak terdiagnosis sebagai Tuberkulosis Paru, ternyata prosentase PCR positifnya cukup besar. Dari 24 sampel dengan hasil rontgen negatif, sebanyak 8 sampel (33,33%) menunjukkan hasil PCR positif yang berarti pada penderita terkandung kuman *M. tuberculosis* dalam sputumnya. Apakah tingginya hasil PCR positif pada hasil pemeriksaan rontgen negatif ini juga akibat rendahnya status imunitas penderita ataukah karena penderita ini masih baru saja terinfeksi, belum bisa dijelaskan pada penelitian ini.

Pada penelitian ini teknik PCR yang digunakan adalah SinglePCR dengan target amplifikasi adalah segmen pada IS 6110 sepanjang 123 pasangan basa. Primer yang digunakan telah diuji pada 27 spesies *non Mycobacteria* dan *Mycobacterium tuberculosis complex*, hasilnya hanya spesifik untuk *M. tuberculosis kompleks*. Primer yang digunakan tidak menggandakan DNA bakteri yang lain yang terdapat pada spesimen.

Dari hasil penelitian terlihat bahwa dari 24 penderita dengan hasil rontgen negatif dan tidak diobati sebagai penderita tuberkulosis paru, ternyata 8 penderita (33,33%) diantaranya memberikan hasil positif dengan pemeriksaan PCR, yang berarti terdapat kuman *M. tuberculosis* pada sputumnya. Apakah penderita ini perlu diobati sebagai penderita tuberkulosis paru, hal ini perlu pembahasan tersendiri dengan para klinisi. Tetapi secara teoritis mikrobiologi bahwa penderita ini adalah orang yang pada sputumnya mengandung kuman *M. tuberculosis* dan dapat menularkan ke orang lain dengan derajat tertentu.

SUMMARY

Diagnosis of tuberculosis can be undertaken from anamnesis, physical, laboratory and other supporting examinations, but in context diagnosis of tuberculosis under the DOTS strategy, this research merely discusses a role of direct sputum smear and thorax roentgen which are standard diagnose method. Microscopic examination with *Ziehl Neelsen* staining to detect the acid fast bacilli is the most rapid and cheapest method but it is lack of sensitivity and specificity. In the case of sensitivity weakness, it means that this method can detect a presence of *Mycobacterium* when their numbers are ≥ 5000 per ml sputum, while in the case of specificity weakness, it means that the method can not discriminate between *M.tuberculosis* and other *mycobacterium* species.

On the contrary, it takes 6-8 weeks to culture *M.tuberculosis*, since its preparation takes place slowly, then identification of specimen and determination of drug sensitivity will do slowly as well.

Polymerase Chain Reaction (PCR) is a molecular biology-based diagnosis method on the basis of DNA fragment detection specific for certain microbes. Therefore, specific primaries are used against microbes to be sought.

Purpose of this research is to study the diagnosis of pulmonary tuberculosis by virtue of clinical symptoms, microscopic examination of the acid fast bacilli and radiological examination, making the use of PCR test. Thus, it can be seen how many patients who are diagnosed as tuberculosis with negative acid fast bacilli and positive roentgen results, resulting in the positive outcomes with PCR, and how many percentage of patients who are diagnosed as nontuberculosis with the negative acid fast bacilli and negative roentgen, generating the positive outcomes with PCR.

Having collected samples in Instalasi Rawat Jalan Paru of RSUD Dr Soetomo Surabaya for about three months (February-May 2003), where each patient who qualifies for criteria as defined before is examined by clinicians and then diagnosed as suspect pulmonary tuberculosis patients. Furthermore, the sputum is examined microscopically using *Ziehl Neelsen* (examination of acid fast bacilli) three times successively (One time - in the morning - one time) and they are also examined for thorax condition. From the suspect patients, 40 people are taken with the negative acid fast bacilli (ie.SPS +,-,- or -,-,-) as the sample. From all samples to be collected, their remaining sputum is examined with PCR.

Results obtained after division of patients based on the roentgen examination, namely those with positive roentgen diagnosed as the pulmonary tuberculosis and those with negative roentgen diagnosed as nonpulmonary tuberculosis indicated different description. In samples with negative roentgen, there are 24 patients, 8 of them were positive with PCR (33.33%) and from samples with positive roentgen there are 16 patients, 15 of them remained positive after being tested with PCR (93.75%).

It could be seen that from 40 samples of the negative acid fast bacilli prior to the PCR test, there were 16 patients (40%) diagnosed as the pulmonary tuberculosis on the basis of the supporting roentgen results. After PCR test, there were 8 additional positive patients (20%) with PCR. Thus, number of patients diagnosed, as the pulmonary tuberculosis became 24 (60%).

The group with negative acid fast bacilli-and negative roentgen were not diagnosed as the pulmonary tuberculosis, give positive results with PCR.

From 24 samples with negative roentgen, 8 of them (33.33%) showed positive PCR results, meaning that the patients' sputum consisted of *M.tuberculosis* germs. Whether these high positive PCR results or low negative roentgen results also resulted from the low immunity status of patients or because the recent infection can not be explained in this research.

PCR technique to be used in this research is *Single PCR* with target amplification is a segment at IS 6110 along 123 bases pairs. These primaries have been tested in 27 *non-Mycobacterium* species and *Mycobacterium tuberculosis complex*, their results are specific only to *M.Tuberculosis complex*. These primaries don't duplicate DNA of other bacteria present in specimen.

From research results it can be observed that those 24 patients with negative roentgen results and are not treated as the pulmonary tuberculosis, in fact, 8 patients (33.33%) of them produce positive results with PCR test, indicating that there are *M. tuberculosis* bacteria in the sputum. Whether these patients should be treated as the pulmonary tuberculosis, this question needs to be discussed further with clinicians. However, in terms of the theoretical microbiology, they are people whose sputum consist of *M.tuberculosis* germs and can transmit them to other people in certain degree.



KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga laporan penelitian ini dapat diselesaikan.

Terima kasih dan penghargaan kami ucapkan kepada DR Kuntaman, Dr, MS, SpMK, Pembimbing ketua yang dengan penuh perhatian telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran dengan tiada bosannya sehingga memacu kami untuk banyak belajar hal hal yang baru.

Terima kasih kepada Kepala RSUD Dr. Soetomo Bapak Abdus Syukur, dr, SpB dan Kepala Instalasi Rawat Jalan Paru Prof Benyamin, dr, SpP beserta seluruh staf dan perawat di Poli DOTS Instalasi Rawat Jalan Paru RSUD Dr. Soetomo atas pemberian ijin, dukungan dan bantuan selama proses pengambilan sampel dalam penelitian ini.

Terima kasih kepada Kepala Instalasi Mikrobiologi RSUD Dr. Soetomo, Ibu Kartuti Debora, dr, SpMK beserta staf dan analis atas ijin penggunaan laboratorium TBC dan bantuan dalam proses pengolahan spesimen dari penderita.

Terima kasih kepada Kepala *Tropical Disease Centre*, Bapak Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan, M.Sc, dr, beserta staf dan analis di laboratorium bersama, atas ijin, bantuan dan bimbingan yang diberikan dalam penggunaan fasilitas laboratorium untuk melakukan pemrosesan spesimen dengan menggunakan PCR.

Terima kasih kami sampaikan kepada seluruh pihak yang telah membantu penyelesaian laporan ini yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu, semoga bantuan yang diberikan mendapat balasan dari Tuhan Yang Maha Esa, amin.

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Hasil pemeriksaan rontgen pada penderita Suspek TB Paru BTA negatif	15
Tabel 5.2. Hasil pemeriksaan PCR terhadap sputum BTA negatif	16
Tabel 5.3. Hasil pemeriksaan PCR dari sputum penderita Suspek Tuberkulosis paru BTA negatif berdasarkan gambaran radiologis	17
Tabel 5.4. Perbandingan jumlah penderita tuberkulosis paru BTA negatif berdasarkan hasil rontgen dan setelah diamplifikasi dengan PCR	20

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Kuman <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	3
Gambar 2.2 Mekanisme respon imun pada cell mediated immunity	5
Gambar 2.3 Diagnosis laboratorium untuk penyakit TBC	6
Gambar 2.4 Gambaran skematik PCR	10
Gambar 5.1 Gambaran hasil PCR	17

DAFTAR ISI

LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN DAN SUMMARY	iii
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	3
BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	11
BAB 4. METODE PENELITIAN	12
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN	15
BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN	21
DAFTAR PUSTAKA	22

DAFTAR SINGKATAN

DOTS	= Directly Observed Treatment, Shortcourse
BTA	= Bakteri Tahan Asam
PCR	= Polymerase Chain Reaction
IS 6110	= Insertion Sequens 6110
SPS	= Sewaktu Pagi Sewaktu
dNTP	= deoksinukleotida triphospat
OAT	= obat anti tuberkulosis