

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tuberkulosis

Tuberkulosis adalah suatu penyakit menular yang disebabkan oleh kuman dari kelompok *Mycobacterium* yaitu *M.tuberculosis* (Kemenkes RI, 2014).

Tuberkulosis adalah salah satu penyakit kronik yang dapat menginfeksi seluruh tubuh manusia, namun yang paling sering diserang adalah organ paru.

Tuberkulosis lebih banyak menyebabkan kematian di seluruh dunia dibanding infeksi lain dan kebanyakan muncul di daerah tropis pada orang yang kurang mampu dan pada penderita HIV. Sebanyak 80% kasus TB berasal dari paru tetapi penyakit ekstra paru sekarang meningkat >50% diantaranya terjadi pada pasien HIV (Davey, 2002).

M.tuberculosis dapat mati jika terkena cahaya matahari langsung selama 2 jam karena kuman ini tidak tahan terhadap sinar ultraviolet. *M.tuberculosis* mudah menular, mempunyai daya tahan tinggi dan mampu bertahan hidup beberapa jam ditempat gelap dan lembab. Oleh karena itu, dalam jaringan tubuh kuman ini dapat *dormant* (tidur), tertidur selama beberapa tahun. Kuman yang ada dalam percikan dahak bertahan hidup 8 – 10 hari (Kemenkes RI, 2012).

TB merupakan penyebab kematian kedua setelah stroke pada bayi, balita dan usia 15 tahun keatas (Nizar, 2017).

Berdasarkan letaknya dapat dibedakan menjadi dua yaitu tuberkulosis paru dan tuberkulosis ekstra paru.

a. Tuberkulosis paru

Diagnosa Tuberkulosis paru pada orang dewasa harus ditegakkan dahulu dengan pemeriksaan bakteriologis. Pemeriksaan bakteriologis yang dimaksud adalah pemeriksaan mikroskopis langsung, biakan dan tes cepat. Apabila pemeriksaan secara bakteriologis hasilnya negatif maka diagnosis TB menggunakan hasil pemeriksaan klinis dan penunjang (pemeriksaan foto toraks).

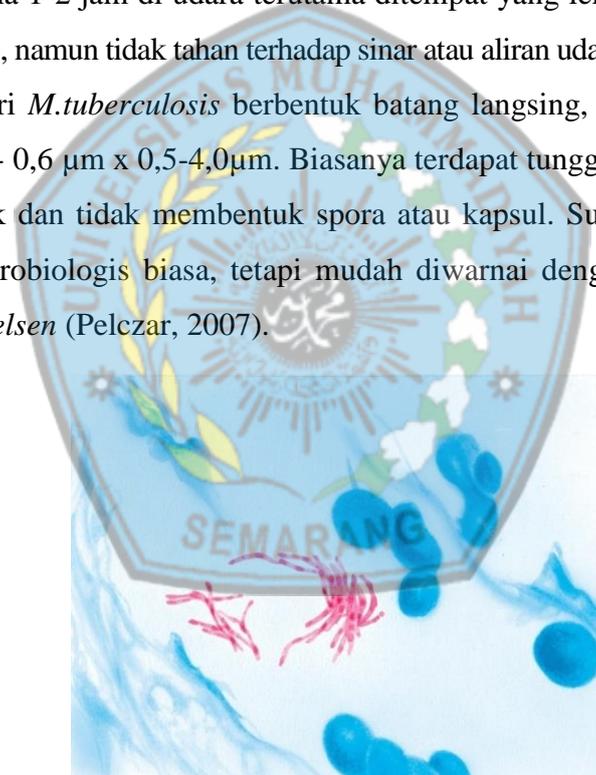
b. Tuberkulosis ekstra paru

Gejala dan keluhan tergantung pada organ yang terkena, misalnya nyeri dada pada TB pleura (pleuritis), kaku kuduk pada meningitis, pembesaran kelenjar limfe superfisialis pada limfadenitis TB. Diagnosa pasti pada pasien TB ekstra paru ditegakkan dengan pemeriksaan klinis, bakteriologis dan histopatologis dari contoh uji yang diambil dari organ tubuh yang terkena (Kemenkes RI, 2014).

2.1.1. Etiologi

Penyebab penyakit ini adalah bakteri kompleks *M.tuberculosis*. Bakteri ini tahan selama 1-2 jam di udara terutama ditempat yang lembab dan gelap (bisa berbulan-bulan), namun tidak tahan terhadap sinar atau aliran udara (Widoyono, 2011).

Bakteri *M.tuberculosis* berbentuk batang langsing, lurus atau lengkung, berukuran 0,3 - 0,6 μm x 0,5-4,0 μm . Biasanya terdapat tunggal atau berkelompok. Tidak bergerak dan tidak membentuk spora atau kapsul. Sukar diwarnai dengan zat warna mikrobiologis biasa, tetapi mudah diwarnai dengan pewarnaan tahan asam *Ziehl Neelsen* (Pelczar, 2007).



Gambar 1. *Mycobacterium tuberculosis* pengecatan Tahan Asam
Sumber: Modul Pelatihan Pemeriksaan Dahak Mikroskopis TB. Kemenkes RI, 2012.

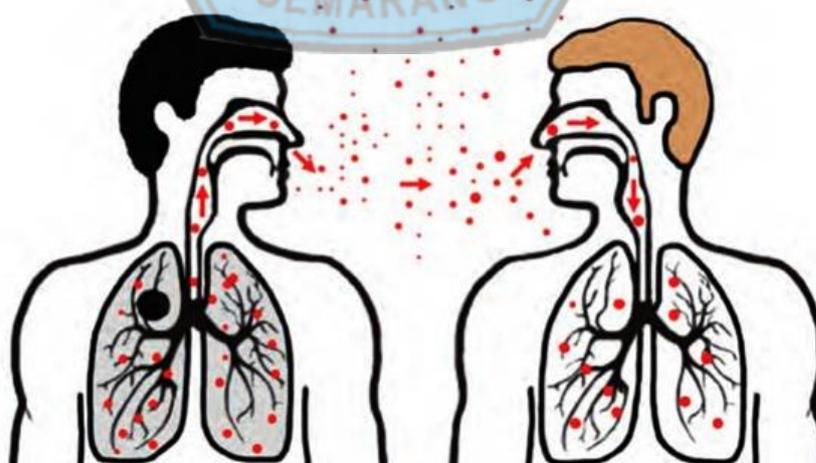
M.tuberculosis bersifat tahan asam terhadap pewarnaan metode *Ziehl Neelsen*. Memerlukan media khusus untuk biakan misalnya Lowenstein Jensen dan Ogawa. Bakteri ini tahan terhadap suhu rendah sehingga dapat bertahan hidup dalam jangka waktu lama pada suhu antara 4°C sampai 7°C, sangat peka terhadap

panas, sinar matahari dan sinar ultraviolet. Jika terpapar langsung dengan sinar ultraviolet, sebagian besar kuman akan mati dalam waktu beberapa menit. Bakteri ini didalam dahak akan mati pada suhu antara 30 – 37° C dalam waktu kurang dari 1 minggu (Kemenkes RI, 2014).

Dinding sel bakteri mengandung zat yang disebut *mycolic acid* yang menyebabkan bakteri sukar diwarnai dengan pengecatan. Pengecatan harus dilakukan dengan teknik khusus seperti pemanasan agar zat warna dapat masuk menembus *mycolic acid* sehingga bakteri dapat terwarnai. Berdasarkan pedoman Pemeriksaan Mikroskopis tuberkulosis, pengecatan bakteri untuk pemeriksaan *M.tuberculosis* dilakukan dengan metode *Ziehl Neelsen* sehingga bakteri *M.tuberculosis* dapat terwarnai dengan jelas. Karena tahan asam, *M.tuberculosis* disebut Basil Tahan Asam (BTA). *M.tuberculosis* merupakan mikroba tahan asam, lebih mirip *Nocardia*. Tingkat ketahanan asam atau alkohol bervariasi, bergantung spesiesnya (Girsang, 2013).

Taksonomi *M.tuberculosis* menurut *Bergey's* yaitu Kingdom: *Procaryoatae*, Filum: *Bacteria*, Kelas: *Schizomycetes*, Family: *Mycobacteriaceae*, Genus: *Mycobacterium*, Species: *Mycobacterium tuberculosis*

2.1.2. Cara Penularan



Gambar 2. Cara penularan *droplet infection*
Sumber: Kemenkes RI 2016

Penyakit tuberkulosis ditularkan oleh pasien TB BTA positif melalui percik relik dahak yang dikeluarkannya. Infeksi akan terjadi apabila orang lain menghirup udara yang mengandung percik relik dahak yang infeksius tersebut. Pada saat batuk atau bersin, pasien menyebarkan kuman ke udara dalam bentuk percikan dahak (*droplet nuclei*). Sekali batuk akan menghasilkan sekitar 3000 percikan dahak. Pasien TB dengan BTA negatif juga masih memiliki kemungkinan menularkan penyakit TB. Tingkat penularan pasien TB BTA positif adalah 65%, pasien TB BTA negatif dengan hasil kultur positif adalah 26% sedangkan pasien TB dengan hasil kultur negatif dan foto toraks positif adalah 17% (Kemenkes RI, 2014).

Setiap BTA positif akan menularkan kepada 10-15 orang lainnya, sehingga kemungkinan setiap kontak tertular TBC adalah 17 %. Hasil studi lainnya melaporkan bahwa kontak terdekat (misalnya keluarga serumah) akan dua kali lebih resiko dibandingkan kontak biasa (Widoyono, 2011).

Cara penularan TBC juga sangat dipengaruhi oleh masalah lingkungan, perilaku sehat penduduk serta ketersediaan pelayanan kesehatan. Masalah lingkungan yang terkait seperti masalah kesehatan yang berhubungan dengan perumahan, kepadatan anggota keluarga, kepadatan penduduk, konsentrasi kuman, ketersediaan cahaya matahari. Sedangkan masalah perilaku sehat antara lain akibat dari meludah sembarangan, batuk sembarangan, kedekatan anggota keluarga, gizi yang kurang atau tidak seimbang. Untuk sarana pelayanan kesehatan antara lain menyangkut ketersediaan obat, penyuluhan tentang penyakit dan mutu pelayanan kesehatan (Kemenkes RI, 2005).

Pasien TB berdasarkan hasil konfirmasi pemeriksaan bakteriologis adalah seorang pasien TB yang dikelompokkan berdasar hasil pemeriksaan contoh uji biologinya dengan pemeriksaan mikroskopis langsung, biakan atau tes diagnostik cepat yang direkomendasi oleh Kemenkes RI (*GeneXpert*) meliputi pasien TB paru BTA positif, pasien TB paru hasil biakan *M.tuberculosis* positif, pasien TB paru hasil tes cepat *M.tuberculosis* positif, pasien TB ekstraparu terkonfirmasi secara biologis, baik dengan BTA, biakan maupun tes cepat dari contoh uji jaringan yang terkena serta TB anak yang terdiagnosis dengan

pemeriksaan bakteriologis (Kemenkes RI, 2014).

2.1.3. Gejala Klinik

Keluhan yang dirasakan penderita tuberkulosis dapat bermacam-macam atau malah tanpa keluhan sama sekali atau tidak ada gejala khas. Gejala TBC pada orang dewasa umumnya penderita mengalami batuk dan berdahak terus-menerus selama 3 minggu atau lebih, atau pernah batuk darah. Adapaun gejala-gejala lain dari TBC pada orang dewasa adalah sesak nafas dan nyeri dada, badan lemah, nafsu makan dan berat badan menurun, rasa kurang enak badan (malaise), berkeringat malam, walaupun tanpa kegiatan, demam meriang lebih dari sebulan (Kemenkes RI, 2014).

2.1.4. Diagnosa Klinik

Dalam mendiagnosa dapat berdasar pada pemeriksaan radiologi, bakteriologi dan hematologi. Pemeriksaan radiologi akan tampak infiltrat pada paru-paru sebagai pertanda infeksi tuberkulosis, infiltrat akan tampak pada sebagian saluran paru atau pada kedua bagian paru-paru. Pemeriksaan bakteriologi, sampel diambil dari sputum penderita. Kultur digunakan untuk diagnosis dan identifikasi bakteri. Diagnosa pasti ditegakkan berdasar adanya Basil Tahan Asam (BTA) pada pemeriksaan (Tabrani, R. 1996).

Revolusi baru dalam diagnosa penyakit Tuberkulosis dengan Tes Cepat Molekuler (TCM). Selain dapat mendeteksi kuman Tuberkulosis, digunakan untuk mengetahui resistensi terhadap rifamisin (Kemenkes RI, 2016).

2.2. Pengendalian Tuberkulosis

Sejak awal tahun 1990-an WHO dan IUATLD mengembangkan strategi pengendalian TB yang dikenal sebagai strategi DOTS (Directly Observed Treatment Short-course). Fokus utama DOTS adalah penemuan dan penyembuhan pasien, diprioritaskan pasien TB tipe menular. Strategi ini akan memutuskan rantai penularan TB sehingga kejadian TB menurun.

2.3. Tahapan Pengobatan Tuberkulosis

Pengobatan Tuberkulosis harus meliputi pengobatan tahap awal dan tahap lanjutan. Pada tahap awal pengobatan diberikan setiap hari selama dua bulan, dengan pengobatan yang teratur dan tanpa adanya penyulit, daya penularan sudah sangat menurun setelah pengobatan dua minggu. Pengobatan tahap lanjutan merupakan tahap yang penting untuk membunuh sisa-sisa kuman yang masih ada dalam tubuh khususnya kuman persister sehingga pasien dapat sembuh dan mencegah terjadinya kekambuhan (Kemenkes RI, 2014).

Isoniasid (H) Dikenal dengan INH, bersifat bakterisid, dapat membunuh 90 % populasi kuman dalam beberapa hari pertama pengobatan. Dosis harian yang dianjurkan 5 mg/kg BB, Rifampisin (R) bersifat bakterisid, dapat membunuh kuman semi dormant (persister) yang tidak dapat dibunuh oleh isoniasid dosis 10 mg/kg BB, Pirasinamid (Z) bersifat bakterisid, dapat membunuh kuman yang berada dalam sel dengan suasana asam. Dosis harian yang dianjurkan 25 mg/kg BB, Streptomisin (S) bersifat bakterisid. Dosis harian yang dianjurkan 15 mg/kg BB, Etambutol (E) bersifat sebagai bakteriostatik. Dosis harian yang dianjurkan 15 mg/kg BB (Kemenkes RI, 2014).

2.4. Pemeriksaan Mikroskopis Tuberkulosis

Persiapan alat dianjurkan wadah/pot dahak yang sekali pakai dan harus selalu bersih, tidak mudah pecah, tidak mudah bocor dengan mulut yang lebar, transparan, bertutup ulir. Setiap wadah harus diberi label pada badannya bukan tutupnya. label yang direkatkan sebelum pengumpulan dahak. Data meliputi tanggal pengambilan dahak, nama penderita, nomor register laboratorium (Fujiki, 2007).

2.4.1. Pembuatan Sediaan Sputum

Penggunaan Alat Pelindung Diri (APD) meliputi jas laboratorium, sarung tangan dan masker, kaca sediaan yang baru dan bersih, ose/lidi, botol berisi pasir dan desinfektan, lampu spiritus/api bunsen, wadah pembuangan lidi bekas dan desinfektan. Bahan dipilih sputum yang kental berwarna kuning kehijauan,

diambil dengan ose/lidi yang ujungnya berserabut kira-kira sebesar biji kacang hijau.

2.4.2. Pembuatan Sediaan Apus

Nomor identitas pasien ditulis pada bagian ujung kaca. Bila menggunakan kaca frosted, ditulis dengan menggunakan pensil 2B pada bagian buram/frosted. Bila menggunakan kaca biasa, ditulis dengan spidol peranen pada stiker yang dilekatkan di balik sediaan. Dipilih dan diambil dahak yang purulen menggunakan ose/lidi yang dipipihkan ujungnya.

Membuat sediaan apus ukuran 2x3 cm diratakan dengan gerakan spiral kecil-kecil dan jangan membuat gerakan spiral jika sediaan sudah kering karena akan menyebabkan aerosol. Apusan dikeringkan suhu kamar, ose/lidi bekas dimasukkan ke dalam wadah berisi pasir dan desinfektan. Kemudian dilakukan fiksasi dengan memegang kaca sediaan memakai pinset dan melewati sediaan diatas api bunsen yang berwarna biru 2-3 kali selama 1-2 detik (kaca sediaan menghadap ke atas) (Kemenkes RI, 2012).

2.4.3. Pewarnaan Ziehl Neelsen

2.4.3.1. Prinsip

Micobacterium tuberculosis mempunyai lapisan dinding lipid yang tahan terhadap asam, proses pemanasan terjadi ikatan ion antara Fuchsin dan asam mikolat yang sangat kuat. Dinding sel tetap mengikat zat warna karbol fuchsin walaupun didekolorisasi dengan asam alkohol (Kemenkes RI, 2012). BTA akan berwarna merah dan non BTA berwarna biru.

2.4.3.2. Reagen pewarnaan Ziehl Neelsen

Larutan Karbol Fuchin 1%, larutan asam alkohol 3% dan larutan methylen biru 0,1 %.

2.4.3.3. Prosedur kerja

Sediaan diletakkan diatas rak pewarnaan dengan jarak minimal satu jari telunjuk, seluruh permukaan sediaan digenangi dengan karbol fuchsin 1%, sediaan dipanasi dengan sulut api disetiap sediaan sampai keluar uap jangan sampai mendidih, diamkan 5 menit, sediaan dibilas dengan hati-hati menggunakan air mengalir, kemudian digenangi dengan asam alkohol, dibiarkan 3 menit, lalu bilas dengan air mengalir sampai bersih tidak tampak sisa zat warna merah, permukaan digenangi sediaan dengan methylen biru hingga menutupi seluruh sediaan dan dibiarkan selama 10-20 detik, methylen biru dibuang dari sediaan satu persatu secara perlahan-lahan dengan cara dibilas dengan air mengalir, sediaan dikeringkan di udara (Kemenkes RI, 2012). Mikroskop dinyalakan, sediaan diberi minyak imersi dan dibaca dengan lensa objektif 100 x dari ujung kiri ke ujung kanan atau sebaliknya.

2.4.3.4. Interpretasi hasil

Pembacaan hasil pemeriksaan sediaan dahak dilakukan dengan menggunakan skala IUATLD sebagai berikut (Kemenkes RI, 2012).

- 1) Tidak ditemukan BTA dalam 100 lapang pandang, dilaporkan negatif.
- 2) Ditemukan 1-9 BTA dalam 100 lapang pandang, dilaporkan scanty (tuliskan jumlah BTA yang ditemukan).
- 3) Ditemukan 10-99 BTA dalam 100 lapang pandang, dilaporkan 1+.
- 4) Ditemukan 1-10 BTA dalam 1 lapang pandang, dilaporkan 2+, (periksa minimal 50 lapang pandang).
- 5) Ditemukan ≥ 10 BTA BTA dalam 1 lapang pandang, dilaporkan 3+, (periksa minimal 20 lapang pandang).

2.5. GeneXpert

Tuberkulosis masih merupakan masalah kesehatan masyarakat di dunia dan di Indonesia. Salah satu penyebab peningkatan beban masalah TB antara lain peningkatan kasus HIV dan adanya kekebalan ganda kuman TB terhadap obat anti TB (MDR). Program Nasional Pengendalian TB telah melakukan beberapa

terobosan untuk mengatasi permasalahan TB, salah satunya dalam bidang laboratorium adalah penggunaan alat diagnosis cepat yaitu *GeneXpert*. Penggunaan *GeneXpert* dengan pemeriksaan *Xpert MTB/RIF* untuk TB MDR diatur melalui Permenkes No. 13 tahun 2013 tentang Pedoman Manajemen Terpadu Pengendalian Tuberkulosis Resisten Obat.

Deteksi kasus dini TB MDR penting untuk menghambat penularan dan untuk mencegah penyebaran TB MDR lebih lanjut sehingga uji diagnostik yang baru sangat diperlukan (Boehme, 2009).

Pemeriksaan *Xpert MTB/RIF* merupakan metode deteksi molekuler berbasis *nested real-time* PCR untuk diagnosis TB. Primer PCR yang digunakan mampu mengamplifikasi sekitar 81 bp daerah inti gen *rpoB* MTB kompleks, sedangkan *probe* dirancang untuk membedakan sekuen *wild type* dan mutasi pada daerah inti yang berhubungan dengan eksistensi terhadap rifampisin.

Pemeriksaan tersebut dilakukan dengan mesin *GeneXpert*, yang menggunakan sistem otomatis yang mengintegrasikan proses purifikasi spesimen, amplifikasi asam nukleat dan deteksi sekuen target. Sistem tersebut terdiri atas mesin *GeneXpert*, komputer dan perangkat lunak. Setiap pemeriksaan menggunakan *cartridge* sekali pakai dan dirancang untuk meminimalkan kontaminasi silang (Kemenkes RI, 2015). Hasil yang akan ditampilkan pada *GeneXpert* yaitu: *MTB not detected*, *MTB detected very low*, *MTB detected low*, *MTB detected medium* dan *MTB detected high* dan apabila terdeteksi TB resisten terhadap rifampisin maka akan keluar hasil *MTB detected* dan *rifampisin detected* (Sukraningsih, R, D. 2017).

World Health Organization (WHO) merekomendasikan pemakaian *GeneXpert* untuk mengevaluasi pasien tersangka TB MDR (*Multi Drug Resistance*) dan pasien dengan BTA negatif. *GeneXpert* mampu memberikan keuntungan untuk diagnosis awal TB dan penggunaan sistem diagnostik ini dapat meningkatkan kepastian diagnosis secara cepat untuk semua pasien (Lawn & Nicol, 2011).

Keterbatasan pemeriksaan *Xpert MTB/RIF* tidak ditujukan untuk menentukan keberhasilan atau pemantauan pengobatan. Hasil negatif tidak

menyingkirkan kemungkinan TB. Pemeriksaan tersebut harus dilakukan sejalan dengan pemeriksaan biakan MTB untuk menghindari risiko hasil negatif palsu dan untuk mendapatkan isolat MTB sebagai bahan identifikasi dan uji kepekaan. Hasil positif tidak selalu mengindikasikan keberadaan mikro organisme hidup atau *viable*. Deteksi MTB kompleks dipengaruhi oleh cara pengumpulan, pengolahan dan penyimpanan spesimen (Kemenkes RI, 2015).

Menurut petunjuk teknis pemeriksaan tuberkulosis menggunakan alat GeneXpert Kemenkes RI 2015 penempatan alat *GeneXpert* memerlukan beberapa persyaratan dan kondisi sesuai dengan standar pelayanan laboratorium TB. Terpenuhinya persyaratan tersebut akan mendukung untuk menjamin pemeriksaan spesimen yang adekuat.

1) Sumber Listrik

Mesin *GeneXpert* membutuhkan ketersediaan sumber listrik yang stabil dan tidak terputus selama pengujian spesimen berlangsung. Terputusnya aliran listrik dalam waktu yang singkat dapat menyebabkan kegagalan pengujian sehingga cartridge terbuang dengan percuma dan membutuhkan spesimen baru. Pasokan listrik yang tidak stabil juga dapat merusak mesin *GeneXpert* dan komputer. Oleh karena itu, stabilizer dan unit power supply (UPS) direkomendasikan dalam penggunaan mesin *GeneXpert*.

2) Keamanan Ruangan

Ruangan tempat diletakkannya *GeneXpert* sebaiknya terjamin keamanannya dari risiko pencurian.

3) Ventilasi

Ruang pengolahan spesimen pada laboratorium pemeriksaan *Xpert MTB/RIF* mempunyai ventilasi yang baik.

4) Penyimpanan cartridge yang adekuat

Berdasarkan rekomendasi pabrikan (Cepheid), cartridge stabil jika disimpan pada suhu 2 – 28⁰C. Perencanaan penggunaan cartridge harus diperhatikan untuk menghindari kedaluarsa.

5) Suhu ruangan tempat mesin *GeneXpert*

Suhu ruangan mesin *GeneXpert* saat bekerja berkisar antara 15 – 30⁰C. Tempat *GeneXpert* membutuhkan pendinginan ruangan untuk meyakinkan suhu berada pada kisaran yang direkomendasikan. Suhu ruangan yang sangat tinggi dapat meningkatkan kemungkinan terjadinya kesalahan (error).

6) Pembatasan penggunaan komputer *GeneXpert*

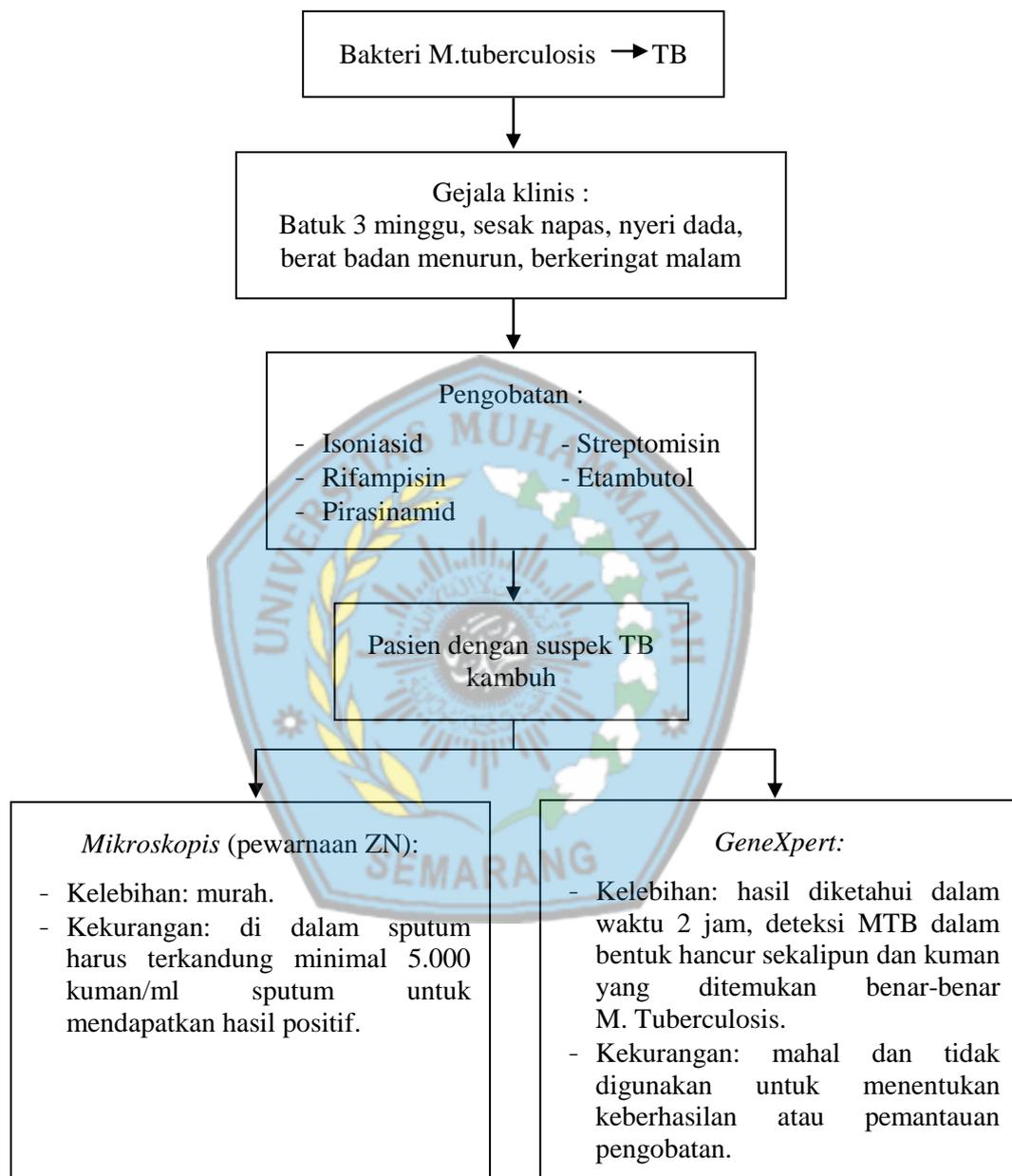
Komputer harus digunakan untuk kepentingan pemeriksaan *GeneXpert* saja. Penggunaan komputer *GeneXpert* untuk kepentingan lain dikhawatirkan dapat merusak sistem perangkat lunak *GeneXpert*. Jika terjadi kerusakan pada sistem perangkat lunak *GeneXpert* akan membutuhkan waktu untuk memperbaikinya.

7) Keselamatan kerja (Biosafety)

Kondisi preparasi dan pemeriksaan spesimen menggunakan mesin *GeneXpert* setara dengan tingkat keselamatan kerja untuk pemeriksaan mikroskopis konvensional. Walaupun demikian, kebutuhan akan pengetahuan dan peralatan *biosafety* harus dilaksanakan.

2.6. Kerangka Teori

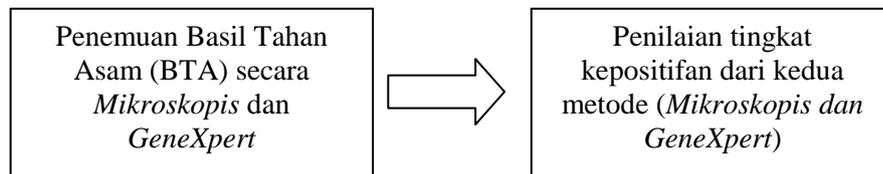
Kerangka teori penelitian tercantum pada Gambar 3.



Gambar 3. Kerangka Teori

2.7. Kerangka Konsep

Kerangka konsep penelitian tercantum pada Gambar 4.



Gambar 4. Kerangka Konsep

2.8. Hipotesis

Ada perbedaan hasil pemeriksaan *Mikroskopis* dan *GeneXpert* pada sputum suspek TB kambuh.

