

UJI DIAGNOSTIK GENE XPERT MTB/RIF PADA PEMERIKSAAN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* DI RSUD R. SYAMSUDIN SH KOTA SUKABUMI

Suryanata Kesuma¹⁾, Tatang Abdullah²⁾

¹Teknologi Laboratorium Medis. Poltekkes Kemenkes Kalimantan Timur.
Samarinda. Kalimantan Timur. Indonesia

²Teknologi Laboratorium Medik. STIKES Rajawali. Bandung. Jawa barat.
Indonesia

E-mail: suryanatakesuma@gmail.com

Abstract

Mycobacterium Tuberculosis infection is one of the endemic infectious diseases in Indonesia. The Mycobacterium Tuberculosis examination method in Indonesia uses conventional microscopic techniques. However, currently, a rapid molecular examination method has been developed, which is Gene Xpert MTB / RIF. The Clinical Laboratory of Syamsudin SH Sukabumi Regional Hospital is one of the hospitals that received a Gene Xpert MTB / RIF tool grant from the government. In the course of its use, diagnostic tests have not been conducted on this tools. The purpose of this study was diagnostic testing of Gene Xpert MTB / RIF for the examination of Mycobacterium Tuberculosis infection with sputum specimens. Diagnostic test values are calculated by making a 2x2 table. The comparison method in this study is conventional microscopic. Gene Xpert MTB / RIF the Clinical Laboratory of Syamsudin SH Sukabumi Regional Hospital, those are Sensitivity 85.3%, Specificity 100%, Positive Prediction Value 100% and Negative Prediction Value 92.3%. The conclusion of this research is the Gene Xpert MTB / RIF of The Clinical Laboratory of Syamsudin SH Sukabumi Regional Hospital is very high so that it can be used for screening and diagnostic Mycobacterium Tuberculosis infections.

Keywords: *Gene Xpert MTB/RIF, Mycobacterium Tuberculosis, Diagnostic Test*

Abstrak

Infeksi Mycobacterium Tuberculosis adalah salah satu penyakit menular endemik di Indonesia. Metode pemeriksaan Mycobacterium Tuberculosis di Indonesia menggunakan teknik mikroskopis konvensional. Namun, saat ini, metode pemeriksaan molekuler cepat telah dikembangkan, yaitu Gene Xpert MTB / RIF. Laboratorium Klinik Rumah Sakit Syamsudin SH Sukabumi adalah salah satu rumah sakit yang menerima hibah alat Gene Xpert MTB / RIF dari pemerintah. Dalam perjalanan penggunaannya, tes diagnostik belum dilakukan pada alat ini. Tujuan dari penelitian ini adalah pengujian diagnostik Gene Xpert MTB / RIF untuk pemeriksaan infeksi Mycobacterium Tuberculosis dengan spesimen sputum. Nilai tes diagnostik dihitung dengan membuat tabel 2x2. Metode perbandingan dalam penelitian ini adalah mikroskopis konvensional. Gene Xpert MTB / RIF Laboratorium Klinik Rumah Sakit Syamsudin SH Sukabumi, yaitu Sensitivitas 85,3%, Spesifisitas 100%, Nilai Prediksi Positif 100% dan Nilai Prediksi Negatif 92,3%. Kesimpulan dari penelitian ini adalah Gen Xpert MTB / RIF dari Laboratorium Klinik RS Syamsudin SH sangat tinggi sehingga dapat digunakan untuk skrining dan diagnostik infeksi Mycobacterium Tuberculosis.

Kata Kunci: *Gene Xpert MTB/RIF, Mycobacterium Tuberculosis, Uji Diagnostik*

PENDAHULUAN

Tuberkulosis merupakan salah satu penyakit infeksi yang telah lama dikenal dan sampai saat ini masih menjadi salah satu penyebab utama kematian di dunia. Berdasarkan data World Health Organization WHO, terjadi peningkatan kasus infeksi *Mycobacterium Tuberculosis* pada 2015 yaitu mencapai 10,4 juta jiwa dari tahun sebelumnya yang hanya 9,6 juta. Jumlah temuan Tuberkulosis terbesar adalah di India sebanyak 2,8 kasus, diikuti Indonesia sebanyak 1,02 juta kasus dan Tiongkok sebanyak 918 ribu kasus. Dalam laporan yang bertajuk *Global Tuberculosis Report 2016* itu, angka kematian akibat TBC di Indonesia mencapai 100 ribu jiwa dalam setahun ditambah 26 ribu penderita tuberkulosis yang terindikasi HIV positif. Sementara angka kematian dunia yang diakibatkan oleh bakteri *Mycobacterium Tuberculosis* (*M. Tuberculosis*) ini mencapai 1,4 juta jiwa ditambah 390 ribu jiwa penderita yang positif terkena HIV. Sedangkan prevalensi penderita Tuberkulosis di Indonesia pada 2015 sebesar 395 per 100 ribu populasi dengan angka kematian sebesar 40 per 100 ribu populasi. Target pemerintahan Indonesia melalui Kementerian Kesehatan yaitu tuberkulosis punah pada 2030 (Kementerian Kesehatan RI, 2016).

Langkah awal pengobatan tuberkulosis yaitu diagnosis infeksi *M. Tuberculosis*. Diperlukan metode diagnostik tuberkulosis yang baik

agar tidak terjadi kesalahan dalam skreening ataupun diagnosis. Metode pemeriksaan yang banyak digunakan di Indonesia adalah mikroskopik konvensional. Metode tersebut menggunakan pewarna Ziehl Neelsen. Teknik pewarnaan Ziehl Neelsen dapat dilakukan secara cepat, mudah, akurat, dan tidak memerlukan biaya mahal dan merupakan gold standar pemeriksaan *M. Tuberculosis* selain biakan *M. Tuberculosis*. Namun, metode tersebut memiliki sensitivitas rendah jika jumlah sampel terlalu banyak karena sangat dipengaruhi oleh tingkat keterampilan teknis (Kementerian Kesehatan RI, 2015).

Saat ini, metode pemeriksaan molekuler untuk *M. Tuberculosis* telah dikembangkan, yaitu Gene Xpert MTB / RIF. Perputaran Waktu untuk metode ini cukup singkat untuk sejumlah besar sampel dan dapat mengidentifikasi keberadaan *M. tuberculosis* dan resistensi terhadap rifampisin secara bersamaan, untuk dapat memulai terapi awal yang akurat yang mendukung penerapan kontrol Tuberculosis-Multi Program Tahan Obat. Hal ini juga dimanfaatkan pada satu strategi dalam menanggulangi TB oleh pemerintah. Strategi tersebut yaitu menghibahkan alat Xpert TB / RIF untuk membantu diagnosa tuberkulosis ke fasilitas layanan kesehatan masyarakat (Agrawal, Bajaj, Bhatia, & Dutt, 2016; Guenaoui et al., 2016; Kementerian Kesehatan RI, 2016).

Metode Gene Xpert MTB/RIF menggunakan prinsip analisis *quantitative real-time polymerase chain reaction* (qRT-PCR) untuk mendeteksi bakteri *M. Tuberculosis* sekaligus mendeteksi resistensi rifampisin secara simultan. Gen target dalam metode ini adalah gen *rpoB* sepanjang 81 pasang basa. Waktu yang diperlukan untuk pemeriksaan dengan metode Gene Xpert MTB/RIF relatif singkat, yakni kurang dari 2 jam (Stephen D Lawn & Mark P Nicol, 2011).

Laboratorium Klinik Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Syamsudin SH Sukabumi merupakan salah satu rumah sakit yang mendapatkan hibah alat Gene Xpert MTB/RIF. Dalam perjalanan penggunaannya, belum dilakukan uji diagnostik terhadap alat tersebut. Tujuan penelitian ini adalah menentukan nilai diagnostik metode Gene Xpert MTB/RIF di RSUD Syamsudin SH Sukabumi.

METODE PENELITIAN

Metode analisis penelitian ini yaitu metode deskriptif dengan pendekatan *comparative study* (study perbandingan). Uji diagnostik Gene Xpert MTB/RIF menggunakan tabel 2x2 untuk menentukan nilai sensitivitas, spesifisitas, nilai prediksi positif (NPP) dan nilai prediksi negative (NPN). Metode pemeriksaan pada Gene Xpert MTB/RIF yaitu *nested Real Time-PCR*. Metode pembanding dalam penelitian ini yaitu pengamatan langsung adanya bakteri *M.*

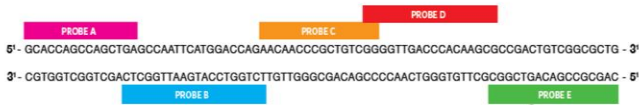
Tuberculosis secara mikroskopis pada perbesaran objektif 1000x dengan pewarnaan *Ziehl Neelsen*. Sampel yang digunakan adalah sebanyak 200 spesimen sputum yang diperiksa di Laboratorium Klinik RSUD Syamsudin SH Sukabumi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode Gene Xpert MTB/RIF menggunakan prinsip *nested Real Time PCR* (RT-PCR) dengan probe teknologi suar molekuler (*molecular beaceon technology*) yang dioperasikan secara semi otomatis. Metode ini mampu menghitung jumlah DNA dari bakteri *M. Tuberculosis* secara kuantitatif. Metode ini dikatakan semi otomatis dikarenakan menggunakan *cartridge* untuk penambahan spesimen sputum secara manual, untuk pencampuran reagen dilakukan secara otomatis pada alat tersebut. Selain identifikasi bakteri *M. Tuberculosis*, metode ini mampu mengidentifikasi resistensi rifampisin terhadap bakteri tersebut (Stephen D Lawn & Mark P Nicol, 2011). Namun pada penelitian ini tidak dilakukan analisis terhadap resistensi rifampisin.

Pada gambar 1. target DNA bakteri *M. Tuberculosis* menggunakan Gene Xpert MTB/RIF yaitu segmen gen *rpoB* sepanjang 81 pasang basa (pb). Gen tersebut mengkode enzim RNA polimerase sub unit B. Pemilihan target tersebut memungkinkan identifikasi *M. Tuberculosis* dan uji resistensi rifampisin dilakukan secara simultan

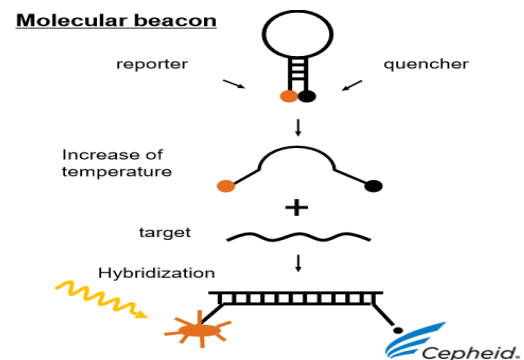
(Piatek et al., 2000; Stephen D Lawn & Mark P Nicol, 2011).



Gambar 1. Gen *rpoB* target pada *M. Tuberculosis*

Teknologi suar molekuler (*molecular beaceon technology*) pada Gene Xpert MTB/RIF menggunakan 5 probe hibridisasi asam nukleat yang menargetkan 81 pasang basa pada gene *rpoB* (Pada Gambar 1.). Suar molekuler (*molecular beaceon*) adalah sekuens oligonukleotida yang mengandung sekuens probe yang disisipkan di antara dua sekuens 'lengan'. Sekuens tersebut dirancang untuk saling melengkapi satu sama lain sehingga saat pengujian mereka terhibridisasi dan membentuk struktur sekunder batang dan loop (*stem and loop*). Target dari 5 probe tersebut saling tumpang tindih dan masing-masing probe dilabeli flourofor dengan warna yang berbeda-beda (Piatek et al., 2000; Tyagi. S, Kramer, 1996). Pada Gambar 2. saat probe menempel pada komplementernya pada sekuens target maka akan mengalami perubahan konformasi. Hal ini mengakibatkan pemisahan kedua 'lengan' dan fluorofofor serta molekul quencher, menghasilkan timbulnya fluoresensi yang cerah (Tyagi. S, Kramer, 1996). Jika setidaknya dua probe menempel pada target dan memberikan sinyal

maka interpretasi hasilnya yaitu pada spesimen tersebut terdapat bakteri *M. Tuberculosis*. Selain itu, jika ada salah satu probe tidak menempel pada DNA target maka kemungkinan adanya mutasi pada target. Hal ini mengindikasikan adanya resistensi terhadap rifampisin.



Gambar 2. Suar molekuler (*molecular beaceon*) pada Gene Xpert MTB/RIF

Gene Xpert MTB/RIF menggunakan *cartridge* sekali pakai dalam pengujiannya. Di dalam *cartridge* tersebut terdapat buffer dan beberapa reagen yang digunakan untuk ekstraksi DNA *M. Tuberculosis* dan persiapan untuk uji RT-PCR. Persiapan spesimen sputum dilakukan secara manual dengan menambahkan natrium hidroksida dan isopropanol. Selanjutnya, spesimen dimasukkan ke dalam *cartridge* untuk dianalisis secara otomatis. Metode destruksi sel *M. Tuberculosis* yaitu dengan lisis ultrasonik (Blakemore et al., 2010; Stephen D Lawn & Mark P Nicol, 2011). Kontrol yang digunakan pada

Gene Xpert MTB/RIF yaitu sekuens DNA dari bakteri *B. globigii*. Kontrol akan mengindikasikan hasil positif pada Ct ≤ 38 siklus.

Nilai uji diagnostik Gene Xpert MTB/RIF di Laboratorium Klinik RSUD Syamsudin SH dengan metode pembandingan mikroskopis pewarnaan Ziehl Neelsen ditampilkan pada tabel berikut ini

Tabel. Nilai Uji Diagnostik Gene Xpert MTB/RIF

Uji Diagnostik
Sensitivitas
Spesifisitas
Nilai Prediksi Positif (NPP)
Nilai Prediksi Negatif (NPN)

Berdasarkan Tabel tersebut, dari 200 sampel sputum diperoleh nilai uji diagnostik Gene Xpert MTB/RIF dengan Sensitivitas sebesar 85,3 %, Spesifitas sebesar 100%, Nilai Prediksi Positif (NPP) sebesar 100% dan Nilai Prediksi Negatif (NPN) 92,3%. Terdapat perbedaan hasil penelitian kami dengan penelitian yang telah dilaksanakan sebelumnya di RSUP Hasan Sadikin Bandung yang mendapatkan nilai uji diagnostic yaitu Sensitivitas 92,5%, Spesifitas 81,8%, Nilai Prediksi Positif (NPP) 94,9%, dan Nilai Prediksi Negatif (NPN) 75,0%. Hal ini diduga karena adanya perbedaan standar yang digunakan. Pada penelitian kami menggunakan standar mikroskopis

pewarnaan mikroskop *Ziehl Neelsen* dengan melihat langsung adanya bakteri *M. Tuberculosis*, sementara itu pada penelitian di RSUP Hasan Sadikin Bandung menggunakan *gold standar* kultur media *Lowenstein Jensen* (Sirait et al., 2013).

Sensitivitas Gene Xpert MTB/RIF di Laboratorium Klinik RSUD Syamsudin SH adalah 85,3%. Sensitivitas ini dipengaruhi oleh limit deteksi atau batas deteksi dari metode dari alat tersebut. Batas deteksi dari Gene Xpert MTB/RIF yaitu 100-176 CFU/mL. Nilai ini lebih kecil dibandingkan dengan kultur yang mencapai 10-100 CFU/ mL. Artinya sensitivitas metode ini pun lebih kecil dibandingkan dengan *gold standar* (Helbert et al., 2010; American Thoracic Society, 2000). Selain itu, Pada Gene Xpert MTB/RIF didapatkan 14,7 % negatif palsu. Hal ini mungkin dikarenakan adanya mutasi diluar dari sekuens target gen *rpoB*, namun hal ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut (Stephen D Lawn & Mark P Nicol, 2011; Zong, Luo, Zhou, Jiang, & Li, 2019). Selain itu ada beberapa faktor teknis yang bisa mengakibatkan negatif palsu yang dikarenakan adanya penghambat proses *RT-PCR*. Penghambat tersebut bisa mengakibatkan probe tidak menempel secara cepat atau bahkan tidak menempel sama sekali. Penghambat tersebut antara lain serbuk dari *handschoen* seperti sodium klorida dan potassium klorida, detergen, etanol, isopropyl, alkohol atau fenol. Beberapa zat

tersebut berperan dalam lisis sel namun dalam konsentrasi berlebihan dapat menghambat proses *RT-PCR* (Nugraha, Saptawati, Eka, & Larasati, 2018; Schrader, Schielke, Ellerbroek, & Johne, 2012). Spesifisitas Gene Xpert MTB/RIF di Laboratorium Klinik RSUD Syamsudin SH sangat tinggi, yaitu 100%. Hasil tersebut sangat tidak memungkinkan terjadinya hasil positif palsu. Terdapat faktor-faktor lain yang mempengaruhi dalam pemeriksaan identifikasi bakteri *M. Tuberculosis* dengan Gene Xpert MTB/RIF seperti prosedur pemipetan sampel spesimen kurang tepat, kondisi dan penambahan buffer terhadap spesimen sputum, homogenisasi yang kurang tepat, adanya aerosol pada cartridge, dan waktu inkubasi saat penambahan sampel sputum (Kementerian Kesehatan RI, 2015).

Hasil uji diagnostik Gene Xpert MTB/RIF di RSUD Syamsudin SH Sukabumi memiliki nilai sensitivitas lebih rendah dari pada spesifisitasnya. Perbandingan ini sama dengan hasil penelitian yang dilaksanakan ditempat lain yaitu di Vietnam dengan nilai sensitivitas 59,3% dan spesifisitas 99,5%, serta penelitian di Bandung dengan nilai sensitivitas 68,3% dan spesifisitas 88,9% oleh peneliti Paramitha dkk (Niken Ayu Paramitha, Yunia Sribudiani, 2018; Thi et al., 2014).

Metode Gene Xpert MTB/RIF dikerjakan hanya dalam waktu 15 menit untuk persiapan spesimen dan 2 jam untuk analisis *RT-PCR*. *Turn*

Around Time (TAT) metode ini jauh lebih singkat dari pada *gold standar* dengan kultur. Kultur *M. Tuberculosis* membutuhkan waktu 2-8 minggu dengan tenaga ahli yang profesional (Guenauoui et al., 2016; Nugraha et al., 2018). Hal ini juga dapat berpengaruh pada kualitas pelayanan laboratorium klinik yang memungkinkan pasien tidak menunggu waktu lama untuk mendapatkan hasil identifikasi *M. Tuberculosis*. Hasil uji diagnostik Gene Xpert MTB/RIF di Laboratorium Klinik RSUD Syamsudin SH yaitu sensitivitas dan spesifisitas tinggi sehingga Gene Xpert MTB/RIF dapat digunakan untuk skrining dan diagnostik infeksi bakteri *M. Tuberculosis*.

KESIMPULAN

Nilai diagnostik metode Gene Xpert MTB/RIF di RSUD Syamsudin SH Sukabumi yaitu Sensitivitas 85,3%; Spesifisitas 100%; Nilai Prediksi Negatif 92,3%; dan Nilai Prediksi Positif 100%. Nilai uji diagnostik Gene Xpert MTB/RIF di RSUD Syamsudin SH Sukabumi sangat tinggi sehingga memungkinkan metode ini digunakan untuk screening dan diagnostik infeksi bakteri *M. Tuberculosis*.

DAFTAR PUSTAKA

Agrawal, M., Bajaj, A., Bhatia, V., & Dutt, S. (2016). Comparative Study of GeneXpert with ZN Stain and Culture in Samples of Suspected Pulmonary

- Tuberculosis. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10(5), 10–13.
<https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/18837.7755>
- Blakemore, R., Story, E., Helb, D., Kop, J., Banada, P., Owens, M. R., ... Icrobiol, J. C. L. I. N. M. (2010). Evaluation of the Analytical Performance of the Xpert MTB / RIF Assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(7), 2495–2501.
<https://doi.org/10.1128/JCM.00128-10>
- Guenauoui, K., Harir, N., Ouardi, A., Zeggai, S., Sellam, F., Bekri, F., & Touil, C. (2016). Use of GeneXpert Mycobacterium tuberculosis / rifampicin for rapid detection of rifampicin resistant Mycobacterium tuberculosis strains of clinically suspected multi-drug resistance tuberculosis cases. *Annals of Translational Medicine*, 4(9).
<https://doi.org/10.21037/atm.2016.05.09>
- Helb, D., Jones, M., Story, E., Boehme, C., Wallace, E., Ho, K., ... Alland, D. (2010). Rapid Detection of Mycobacterium tuberculosis and Rifampin Resistance by Use of On-Demand , Near-Patient Technology, 48(1), 229–237.
<https://doi.org/10.1128/JCM.01463-09>
- Kementerian Kesehatan RI. (2015). *Petunjuk Teknis Pemeriksaan Tuberkulosis Menggunakan Alat Gene Xpert*.
- Kementerian Kesehatan RI. (2016). *National Strategic Plan of Tuberculosis Control. Kementerian Kesehatan RI*.
- Niken Ayu Paramitha, Yunia Sribudiani, A. R. (2018). Perbandingan Positivitas Metode MODS , Pewarnaan ZN , dan GeneXpert untuk Mendeteksi M . tuberculosis pada Pasien Meningitis TB Comparison of Positivity Rate of MODS , Ziehl-Neelsen Staining , and GeneXpert Methods in M . tuberculosis Detection among Tube. 240 *Majalah Kedokteran Bandung*, 50(4).
<https://doi.org/10.15395/mkb.v50n4.1267>
- Nugraha, T., Saptawati, L., Eka, K., & Larasati, R. (2018). Evaluasi Metode GeneXpert MTB / RIF dengan Sampel Raw Sputum untuk Mendeteksi Tuberkulosis Paru Evaluation of GeneXpert MTB / RIF Method Using Raw Sputum Samples for Detecting Pulmonary Tuberculosis, 2(1), 7–10.
- Piatek, A. M. Y. S., Telenti, A., Murray, M. R., El-hajj, H., Jacobs, W. R., Kramer, F. R., & Alland, D. (2000). Genotypic Analysis of Mycobacterium tuberculosis in Two Distinct Populations Using Molecular Beacons : Implications for Rapid Susceptibility Testing, 44(1), 103–110.
- Schrader, C., Schielke, A., Ellerbroek, L., & Johne, R. (2012). PCR inhibitors –

- occurrence, properties and removal. *Journal of Applied Microbiology*, 2012/0617. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05384.x>
- Sirait, N., Parwati, I., Dewi, N. S., Suraya, N., Patologi, L., Rumah, K., ... Klinik, D. P. (2013). Validitas Metode Polymerase Chain Reaction GeneXpert MTB / RIF pada Bahan Pemeriksaan Sputum untuk Mendiagnosis Multidrug Resistant Tuberculosis. *Validity of Polymerase Chain Reaction GeneXpert MTB / RIF Method on Sputum Sample Examination to Diagnose Multidrug Resistant Tuberculosis*, 45(4), 234–240.
- Society, A. T. (2000). Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 161, 1376–1395.
- Stephen D Lawn & Mark P Nicol. (2011). Xpert® MTB/RIF assay: development, evaluation and implementation of a new rapid molecular diagnostic for tuberculosis and rifampicin resistance. *Future Microbiol.*, 6(9), 1067–1082. <https://doi.org/doi.org/10.2217/fmb.11.84>
- Thi, N., Nhu, Q., Heemskerk, D., Dang, D., Thu, A., Thi, T., ... Caws, M. (2014). Evaluation of GeneXpert MTB / RIF for Diagnosis of Tuberculosis, 52(1), 226–233. <https://doi.org/10.1128/JCM.01834-13>
- Tyagi, S., Kramer, F. R. (1996). Molecular Beacons: Probes That Fluoresce Upon Hybridization. *Nature Biotechnology*, (April). <https://doi.org/10.1038/nbt0396-303>
- Zong, K., Luo, C., Zhou, H., Jiang, Y., & Li, S. (2019). Xpert MTB / RIF assay for the diagnosis of rifampicin resistance in different regions: a meta-analysis. *BMC Microbiology*, 19:177, 1–21.