



ANALISIS *LINE PROBE ASSAY* DAN *MYCOBACTERIUM GROWTH INDICATOR TUBE* TERHADAP RESISTENSI *FLUOROQUINOLONE* PADA PASIEN TB-MDR

ANALYSIS OF *LINE PROBE ASSAY* AND *MYCOBACTERIUM GROWTH INDICATOR TUBE* ON *FLUOROQUINOLONE* RESISTANCE IN MDR-TB PATIENTS

Filsopy Rosi¹, Dewi Hartati^{1*}, Bastian^{2**}

¹²³ Program Studi S.Tr. Teknologi Laboratorium Medis Universitas Muhammadiyah Ahmad Dahlan Palembang

Korespondensi Email: dewihartatiavu@gmail.com

ABSTRACT

Background: TB is an infectious disease easily transmitted through the air caused by Mycobacterium tuberculosis. TB is a threat to global public health and Indonesia occupies the second highest position of TB cases in the world. Diagnosis and management of TB patients will influence TB control. MDR-TB or Multi Drug Resistant is drug-resistant TB to at least 2 first-line anti-TB drugs. Mycobacterium Growth Indicator Tube (MGIT) is the gold standard in TB examination but takes quite a long time. One alternative developed by WHO is the Line Probe Assay with a genotyping method which provides a faster diagnosis. So that detection and treatment of MDR-TB can be carried out immediately. Research objectives: To analyze the Line Probe Assay and Mycobacterium Growth Indicator Tube in MDR-TB patients. Research Method: This research is an observational analytical study using a cross sectional method with a post test only control design between Line probe assay and Mycobacterium Growth Indicator Tube on the results of the Line OAT test for two classes of Fluoroquinolone. Results: Analysis results show that LPA Genotype MTBDRsI ver 2.0 with Mycobacterium Growth Indicator Tube as the gold standard has a sensitivity of 100%. Conclusion: The Line Probe Assay has been proven to be able to detect Fluoroquinolone resistance with the same accuracy as the Mycobacterium Growth Indicator Tube, but faster and has the potential to accelerate MDR-TB therapy."

Keyword : *Line Probe Assay, Mycobacterium Growth Indicator Tube, MDR-TB*

Bibliography: 10(2019-2024)

ABSTRAK

Latar belakang : TB merupakan penyakit infeksi mudah menular melalui udara yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. TB menjadi ancaman bagi kesehatan masyarakat global dan Indonesia menempati posisi kedua kasus TB tertinggi di dunia. Diagnosa dan penatalaksanaan pasien TB akan berpengaruh dalam penanggulangan TB. TB-MDR atau *Multi Drug Resistant* adalah TB resisten obat terhadap minimal 2 obat anti TB lini pertama. *Mycobacterium Growth Indicator Tube (MGIT)* merupakan *gold standar* dalam pemeriksaan TB namun membutuhkan waktu yang cukup lama. Salah satu alternative yang dikembangkan WHO adalah *Line Probe Assay* dengan metode *genotype* yang memberikan diagnosa lebih cepat. Sehingga deteksi dan pengobatan TB-MDR dapat segera dilakukan. **Tujuan penelitian :** Untuk menganalisis *Line Probe Assay* dan *Mycobacterium Growth Indicator Tube* pada pasien TB-MDR. **Metode Penelitian:** Penelitian ini merupakan penelitian *analitik observasional* dengan metode *cross sectional* dengan desain *post test only control desain* antara *Line probe assay* dan *Mycobacterium Growth Indicator Tube* terhadap hasil uji OAT Lini dua golongan *Fluoroquinolone*. **Hasil :** Hasil Analisa menunjukkan LPA *Genotype MTBDRsI ver 2.0* dengan *Mycobacterium Growth Indicator Tube* sebagai *gold standar* adalah sensitivitas 100%. **Simpulan :** *Line Probe Assay* terbukti mampu mendeteksi resistensi *Fluoroquinolone* dengan akurasi yang sama baiknya dengan *Mycobacterium Growth Indicator Tube*, namun lebih cepat sehingga berpotensi mempercepat terapi TB-MDR."

Kata kunci : *Line Probe Assay, Mycobacterium Growth Indicator Tube, TB-MDR*

Daftar Pustaka : 10 (2019-2024)

1. Pendahuluan

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit infeksi mudah menular disebabkan oleh kuman *Mycobacterium tuberculosis*. TB sebagian besar menyerang paru namun sebagian lain menyerang organ lain seperti kelenjar getah bening, ginjal, tulang belakang dan otak [1]. TB menjadi ancaman kesehatan masyarakat global dan merupakan salah satu penyakit infeksi yang dapat menyebabkan kematian [2]. TB merupakan penyakit menular mematikan ke 2 di dunia setelah covid-19 dan berada di urutan ke 13 sebagai faktor penyebab utama kematian di seluruh dunia [3].

Berdasarkan data terbaru 2022 Indonesia menempati posisi kedua beban kasus TB tertinggi setelah India, naik dari posisi ketiga pada tahun 2021 dengan estimasi kasus sebesar 969.000 dan angka kematian mencapai 150.000 kasus (satu orang setiap empat menit) [3]. Diagnosis dini dan penatalaksanaan pasien TB dari segala usia dan semua bentuk TBC menjadi krusial untuk penanggulangan TB. Kebijakan yang tidak memadai, kegagalan system kesehatan penyediaan peralatan, kualitas obat TBC yang buruk, pasien tidak patuh, atau kombinasi dari semua hal tersebut dapat menyebabkan terjadinya resistan terhadap obat (TBC-RO). Secara global, pada tahun 2019, ditemukan sekitar 3,3% dari kasus TBC baru dan 17,7% dari kasus TBC pengobatan ulang merupakan kasus TBC MDR/ TBC-RR. Diperkirakan terdapat setengah juta orang menderita TBC resistan rifampisin, dimana 78% diantaranya adalah kasus TBC MDR [4].

TB MDR atau *Multi Drug Resistant Tuberculosis* adalah TB resistan obat terhadap minimal 2 obat anti TB yaitu *Rifampisin* (R) dan *Isoniazid* (INH) secara bersama-sama atau resistan terhadap obat anti TB lini 1 lainnya seperti *streptomycin*, *ethambutol* dan *pirazinamid*. Di tingkat global, Indonesia termasuk peringkat ke-8 dari 27 negara dengan beban TB-MDR terbanyak di dunia dan WHO memperkirakan ada 23.000 kasus MDR di

Indonesia dan terdapat 4.590 kasus baru TB MDR [5].

Uji kepekaan dengan metode fenotipik yang berbasis biakan masih merupakan baku emas (*gold standard*) untuk uji kepekaan saat ini, tetapi membutuhkan waktu yang relative lama, memerlukan infrastruktur laboratorium yang canggih, staff yang kompeten dan pemantauan mutu yang ketat. *Drug Susceptibility Test* lini dua TB-MDR bisa dilakukan dengan dua cara yaitu, kultur padat *Lowenstein Jensen* dan kultur cair *Mycobacterium Growth Indicator Tube*. Kultur *Lowenstein Jensen* melihat resistansi dengan proporsi dengan metode proporsi jumlah koloni *M.tuberculosis* pada hari ke 28-42 dibandingkan dengan jumlah koloni tanpa obat, sedangkan kultur cair MGIT melihat resistansi dengan *break point* angka pertumbuhan >100 pada hari 5-19 hari dengan obat. Kedua kultur tersebut jauh lebih lambat bila dibandingkan dengan LPA [6], [7].

Diagnosa TB-MDR lini dua dengan LPA dapat dideteksi dalam waktu 24-48 jam (1-2 hari) jauh lebih cepat bila dibandingkan dengan DST lini dua kultur. Diagnosis yang tepat dalam waktu yang singkat dapat meminimalkan waktu pengobatan TB-MDR dengan menggunakan *Shorter Therapy Regimen* (STR) 9-11 bulan [4].

Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa *Line Probe Assay* mampu mendeteksi resistensi *Fluoroquinolone* sehingga berpotensi mempercepat terapi TB-MDR

2. Metode Penelitian

a. Desain Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan dalam penelitian ini adalah metode *cross sectional*. Penelitian ini merupakan penelitian analitik observasional dengan pendekatan *cross sectional* dimana penelitian ini membandingkan hasil uji antibiotic *Mycobacterium tuberculosis* lini dua golongan *fluoroquinolone* antara metode *Line probe Assay* dengan

Mycobacteria Growth Indicator Tube. Penelitian *cross sectional* merupakan suatu penelitian yang mempelajari korelasi antara paparan atau faktor resiko (*independen*) dengan akibat atau efek (*dependen*), dengan pengumpulan data dilakukan secara bersamaan dan serentak dalam satu waktu, yang artinya semua variable independen dan variable dependen diobservasi pada waktu yang sama, dengan rancangan penelitian yaitu *post test only control desain* [8].

b. Populasi dan Sampel

Populasi penelitian menggunakan sampel sputum pasien TB MDR yang dikirimkan ke BBLKM Palembang yang berjumlah 30 sampel. Sampel pada penelitian ini adalah total sampling pada Bulan Februari – Maret 2024 di BBLKM Palembang.

Kriteria Inklusi	Kriteria Eksklusi
1. Volume sampel sputum minimal 1 ml	1. Pot atau wadah Sputum tidak steril, pecah, rusak atau bocor.
2. Spesimen dengan permohonan formulir TB 05	2. Spesimen non sputum
3. Pemeriksaan Mikroskopis BTA positif	

Data yang didapat akan dilanjutkan dengan uji diagnostik pada *Line Probe Assay* dan *Mycobacterium Growth Indicator Tube*. Teknik sampling pada penelitian ini menggunakan purposive sampling pengambilan sampel dengan cara memberikan penilaian sendiri terhadap sampel di antara populasi yang dipilih [9].

c. Analisis Data

Pada penelitian ini pengumpulan data dilakukan menggunakan data primer yang diambil langsung dari hasil penelitian peneliti. Instrumen yang digunakan untuk melakukan pengumpulan data yaitu Instrument GT Blot 48 dan MGIT 960.

d. Prosedur pemeriksaan

Prinsip Kerja Instrumen GT Blot 48 adalah alat pencuci hibridisasi otomatis yang menginkubasi strip LPA pada suhu yang sesuai dan melakukan berbagai langkah inkubasi dan pencucian secara otomatis



Gambar 1
GT Blot 48

Instrument MGIT 960 merupakan instrument yang digunakan untuk menginkubasi kultur dan DST pada suhu 37° C dengan monitoring fluorescence secara terus menerus.



Gambar 2
Instrument MGIT 960

Data yang digunakan berupa hasil pemeriksaan TB-MDR pada *Line Probe Assay* dan *Mycobacterium Growth Indicator Tube* lini dua golongan *fluoroquinolone*. Data yang di dapatkan akan diolah dan dianalisa dengan test uji berskala data nominal 2 kategori dengan hasil pengamatan disajikan dalam bentuk tabulasi silang 2 sebagai berikut:

		Gold standar test		
		Sakit	Tidak Sakit	
Test yang dinilai	+	a	b	a+b
	-	c	d	c+d

	a+c	b+d	Total
--	-----	-----	-------

Berdasarkan tabulasi silang tersebut maka dapat didefinisikan terlebih dahulu arti dari tiap sel sebagai berikut:

- 1 a = jumlah yang dinyatakan positif oleh test dan baku emas menyatakan sakit.
- 2 b = jumlah yang dinyatakan positif oleh test tetapi baku emas menyatakan tidak sakit.
- 3 c = jumlah yang dinyatakan negatif oleh test tetapi baku emas menyatakan sakit.
- 4 d = jumlah yang dinyatakan negatif oleh test dan baku emas juga menyatakan tidak sakit.
- 5 a+c adalah keseluruhan jumlah orang yang sakit
- 6 b+d adalah keseluruhan jumlah yang tidak sakit
- 7 a+b adalah keseluruhan jumlah yang hasil testnya positif
- 8 c+d adalah keseluruhan jumlah yang hasil testnya negatif
- 9 Total adalah jumlah total sampel yang diteliti

Rumus untuk menghitung sensitifitas, spesifisitas adalah:

$$\text{Sensitifitas} = \frac{a}{a+c} \times 100\%$$

Spesifisitas, adalah kemampuan tes untuk menunjukkan individu mana yang tidak menderita sakit dari mereka yang benar-benar tidak sakit atau dapat diterjemahkan dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Spesifisitas} = \frac{d}{b+d} \times 100\%$$

Spesifisitas menunjukkan kemampuan suatu test untuk menyatakan negatif orang-orang yang tidak sakit. Semakin tinggi spesifisitas suatu test maka semakin banyak mendapatkan hasil test

negatif pada orang-orang yang tidak sakit atau semakin sedikit jumlah positif palsu.

e. Etika Penelitian

Etika penelitian diperlukan untuk menghindari terjadinya tindakan yang tidak etis dalam melakukan penelitian, maka dilakukan prinsip-prinsip sebagai berikut :

1. Manfaat

Penelitian diharapkan dapat memberikan manfaat yang sebesar-besarnya dan mengurangi kerugian bagi subjek penelitian.

2. Anonimitas

Untuk menjaga kerahasiaan peneliti tidak mencantumkan nama responden, tetapi lembar tersebut hanya diberi kode. Pada penelitian ini peneliti menjamin kerahasiaan data responden dengan tidak mencantumkan nama responden, tetapi lembar data hasil penelitian tersebut hanya diberi kode nomor responden.

3. Confidentiality (Kerahasiaan)

Confidentiality yaitu tidak menginformasikan data dan hasil penelitian berdasarkan data individual, namun data dilaporkan berdasarkan kelompok. Pada penelitian ini peneliti tidak akan menginformasikan data dan hasil penelitian berdasarkan data individual, namun data dilaporkan berdasarkan kelompok dengan menggunakan kode nomor.

4. *Nonmale ficense (tidak merugikan)*

Nonmale ficense yaitu peneliti tidak akan merugikan responden sehingga peneliti akan menjamin tindakan penyalahgunaan apapun yang berkaitan dengan responden.

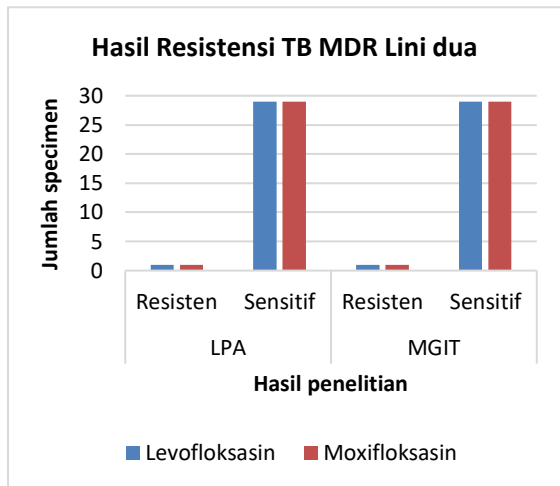
5. *Justice (Keadilan)*

Tidak membedakan subjek penelitian. Penelitian harus seimbang antara manfaat dan resikonya.

3. Hasil Dan Pembahasan

a. Hasil Penelitian

Hasil uji kepekaan OAT Lini dua golongan *Fluoroquinolone* yaitu *Levofloksasin* dan *Moxifloksasin* pada sampel TB MDR menggunakan *Line Probe Assay* dan *Mycobacterium Growth Indicator Tube* dari 30 sampel dapat dilihat pada gambar 1.1 sebagai berikut :



hasil frekuensi TB-MDR terhadap OAT Lini dua golongan *Fluoroquinolone* yaitu 1 sampel (3,3%) resisten dan 29 sampel (96,7%) sensitive.

Hasil pemeriksaan Genotype MTBDRsI ver 2.0 dan DST pada sampel TB MDR didapatkan sebagai berikut;

Total isolate	DST		MTBDRsI ver 2.0	
	Resisten	Sensitif	Resisten	Sensitif
<i>Levofloksasin</i>	1 (3,3%)	29 (96,7%)	1 (3,3%)	29 (96,7%)
<i>Moxifloksasin</i>	1 (3,3%)	29 (96,7%)	1 (3,3%)	29 (96,7%)

hasil frekuensi TB-MDR terhadap OAT Lini dua golongan *Fluoroquinolone* sebanyak 1 sampel (3,3%) resisten dan 29 sampel (96,7%) sensitive.

Berdasarkan pemeriksaan *Genotype MTBDRsI ver2.0* dan DST dari 30 isolat TB MDR dapat dihitung Sensitivitas dan Spesivitas sebagai berikut ;

Perbandingan LPA *Genotype MDRTBsI ver2.0* dan DST Lini dua

LPA	MGIT		Total	Sensitifitas	Spesivitas
	Resisten	Sensitif			
Resisten	1	0	1		
Sensitif	0	29	29	100	100
Total	1	29	30		

dari 30 sampel isolate didapatkan hasil performans LPA *Genotype MTBDRsI ver2.0* terhadap DST Lini Dua golongan *Fluoroquinolone* didapatkan sensitivitas 100% dan spesivitas 100%.

b. Pembahasan

Penelitian ini menggunakan 30 sampel sputum TB MDR *positive smear* yang didapatkan dari 508 sampel. *Positive smear* diharapkan mampu memberikan hasil *Mycobacterium tuberculosis detected* pada pemeriksaan LPA dengan *limit of detection* 10.000 CFU/ml atau sama dengan mikroskop *smear*.

Genotype MTBDRsI ver2.0 dibandingkan dengan pemeriksaan DST metode MGIT terhadap resistansi *Fluoroquinolone* yaitu *Levofloksasin* dan *Moxifloksasin* didapatkan hasil sensitivitas 100% dan spesivitas 100%. Hal ini disebabkan tidak terjadi mutasi diluar QRDR dari *Genotype MTBDRsI ver2.0* [10]. Sehingga resistansi TB MDR lini dua metode *Line Probe Assay* dapat digunakan sebagai metode cepat dalam membantu pengobatan pasien TB.

Hasil ini selaras dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Maningi et al 2019 juga menunjukkan hasil yang sangat efisien dalam mendeteksi LPA dan MGIT terhadap DST lini pertama (*Rifampisin, Isoniazid, ethambutol*) dan

lini ke dua (*Ofloksasin, Kanamisin*). Penelitian yang dilakukan chaerunnisa et al ditemukan adanya mutasi *GyrA* dan *rrs*. Proporsi hasil resistansi OAT lini dua menggunakan LPA 3,3% dan MGIT 4,1% namun tidak ada perbedaan yang signifikan (*p-value* 0,991).

LPA *Genotype MTBDRsI ver2.0* adalah multiplex PCR dengan deteksi mutasi 4 gen yaitu, resistensi *fluoroquinolone gyrA* (kodon 85-96) dan *gyrB* (kodon 56-541), *rrs* (resisten amikasin) dan *eis* (resisten kanamisin). DNA yang sudah teramplifikasi kemudian dihibridasi dengan probe. Jika DNA dan probe berikatan maka akan terbentuk pita yang akan terdeteksi secara visual melalui pembentukan warna. Warna yang terbentuk disebabkan reaksi enzimatis antara streptavidin yang berikatan dengan primer biotinisasi [9].

Fluoroquinolone merupakan obat paling penting yang diberikan kepada pasien TB-MDR dikarenakan memiliki toksisitas paling rendah dibandingkan OAT lini dua lainnya dan memberikan hasil terapi yang lebih baik. *Fluoroquinolone* mengikat *Topoisomerase II* (DNA *gyrase*) pada *Mycobacterium tuberculosis* yang dikodekan dengan *gyrA* (kodon 74-113) dan *gyrB* yang mengkatalisis *supercoiling* DNA dengan menghambat *resealing* untai DNA sehingga terjadi degradasi DNA dan kematian sel [11].

DST metode MGIT mengukur resistensi secara fenotipik dengan penilaian kriteria 1% yaitu inoculum control didilusikan 100 kali lipat dibandingkan dengan inoculum tabung berisi obat. *Fluoroquinolone* membunuh bakteri *Mtbc* dengan menghambat replikasi, transkripsi dan perbaikan DNA pada *topoisomerase II* dan menyebabkan tidak terjadi pertumbuhan pada tabung MGIT [11]. Resistensi *fluoroquinolone* disebabkan adanya mutasi pada gen yang mengkode DNA *gyrase* yang mengubah asam amino sehingga pertumbuhan *Mtbc* mempengaruhi peningkatan fluoresensi pada tabung MGIT dengan obat [9].

Line Probe Assay bukan pengganti untuk kultur konvensional dan DST. Kultur masih diperlukan untuk specimen negatif dikarenakan *Limit of Detection* 10-100 CFU/ml. Sementara untuk mengkonfirmasi TB-XDR masih diperlukan DST konvensional. Namun dalam algoritma skrining TB-MDR, LPA dapat secara signifikan mengurangi permintaan kultur konvensional karena mampu meminimalkan biaya dan waktu [9].

4. Kesimpulan

Sensitifitas *Line Probe Assay MTBDRsI ver2.0* pada penelitian ini dari 30 isolat TB MDR didapatkan 100%. Spesifisitas *Line Probe Assay MTBDRsI ver2.0* pada penelitian ini dari 30 isolat TB MDR didapatkan 100%. *Line Probe Assay MTBDRsI ver2.0* sama baiknya dengan *gold standart DST Lini Dua Mycobacterium Growth Indicator Tube*.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu dan memfasilitasi pelaksanaan kegiatan penelitian ini sehingga terlaksana sesuai dengan rencana yang telah disusun.

Daftar Rujukan

- [1] TB Indonesia, "Laporan Program Penanggulangan Tuberkulosis Tahun 2022." [Online]. Available: <https://www.tbindonesia.or.id/wp-content/uploads/2023/09/Laporan-Tahunan-Program-TBC-2022.pdf>
- [2] World Health Organization, "Global Tuberculosis Report 2021." [Online]. Available: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240037021>
- [3] World Health Organization, "Global Tuberculosis Report 2022." [Online]. Available: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240061729>

- [4] Kemenkes RI, “Buku Panduan Tenaga Medis dan Tenaga Kesehatan Tuberculosis,” TB Indonesia. [Online]. Available: <https://www.tbindonesia.or.id/wp-content/uploads/2025/01/Buku-Panduan-Tenaga-Medis-dan-Kesehatan-Tuberculosis.pdf>
- [5] Kemenkes RI, “Laporan Program Penanggulangan Tuberculosis,” 2024. [Online]. Available: https://www.tbindonesia.or.id/wp-content/uploads/2024/12/Laporan-Program-Penanggulangan-TBC-2023_Final.pdf
- [6] N. E. Maningi, L. A. Malinga, J. F. Antiabong, R. M. Lekalakala, and N. M. Mbelle, “Comparison of Line Probe Assay to BACTEC MGIT 960 System for Susceptibility Testing of First and Second-Line Anti-Tuberculosis Drugs in a Referral Laboratory in South Africa,” *BMC Infect. Dis.*, vol. 17, no. 1, p. 795, 2017, doi: 10.1186/s12879-017-2898-3.
- [7] Kemenkes RI, “Petunjuk Teknis dan Pemantapan Mutu Pemeriksaan Biakan, Identifikasi, dan Uji Kepekaan Mycobactreium Tuberculosis Complex terhadap Obat Anti Tuberculosis pada Media Padat dan Media Cair.” [Online]. Available: <https://repository.kemkes.go.id/book/829>
- [8] H. Syapitri, N. Amila, and J. Aritonang, *Buku Ajar Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Ahlimedia Book, 2021.
- [9] Kemenkes RI, “Petunjuk Teknis Pemeriksaan Tuberculosis Menggunakan Tes Cepat Molekuler GeneXpert,” TB Indonesia. [Online]. Available: https://www.tbindonesia.or.id/wp-content/uploads/2024/02/Buku-Petunjuk-Teknis-Pemeriksaan-TBC-Menggunakan-Alat-TCM-GeneXpert_2023-1.pdf
- [10] T. F. Choerunisa, L. Lismayanti, T. Rostini, R. Bayusantika, and I. Parwati, “Comparison of Line Probe Assay (LPA) and Mycobacterium Growth Indicator Tubes (MGIT) Assay for Second-line TB Drug Susceptibility Testing,” *Indones. Biomed. J.*, vol. 13, no. 3, pp. 256–260, 2021, doi: 10.18585/inabj.v13i3.1521.
- [11] W. Deelder *et al.*, “Machine Learning Predicts Accurately Mycobacterium Tuberculosis Drug Resistance from Whole Genome Sequencing Data,” *Front. Genet.*, vol. 10, p. 922, 2019, doi: 10.3389/fgene.2019.00922.