

Spoligotyping, Resistensi *Mycobacterium tuberculosis* terhadap obat TB dan Faktor Risiko Penularan Tuberkulosis Paru di Kota Jayapura

SPOLYGOTYPING, TB DRUGS RESISTANCE OF Mycobacterium tuberculosis AND PULMONARY TB RISK OF TRANSMISSION IN JAYAPURA CITY

Hana Krismawati¹, Antonius Oktavian¹, Lydia Chaidir², Evy Iriani Natalia¹,
Melda Suebu¹, Oktovianus Karapa¹,

¹Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Papua
²Unit Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran UNPAD
Jl. kesehatan No.10 Dok II Jayapura 99112
E- mail : hkrismawati@gmail.com

Submitted : 13-07-2018, Revised : 25-10-2018, Revised : 20-11-2018, Accepted : 07-03-2019

Abstract

Identification of the Mycobacterium tuberculosis strain found in pulmonary tuberculosis patients in Jayapura using Spoligotyping was carried out. Patients with pulmonary tuberculosis are taken as an index case. Sputum samples were taken to be diagnosed with Acid Fast Staining and to culture M. tuberculosis bacteria using Lowenstein Jansen solid media, Ogawa solid media and Mycobacterium Growth Indicator Tube liquid media. The patient's home visit was conducted to determine the environmental conditions of the patient's residence, interview the close contacts and test the bacterial infection M. tuberculosis in close contact cases using the Mantoux test. A thorax radiology of close contacts was carried out in the hospital's radiology unit. The results of spoligotyping showed 8% sputum samples M. tuberculosis of Beijing strain, while the rest are M. tuberculosis non Beijing strains. Among the 46 of Non-Beijing strains, the type U (likely S) is most transmitted by tuberculosis patients to their close contacts, which is as much as 6%. This study confirms the factors that influence tuberculosis transmission are the sleeping location of close contacts with the patients, the frequency of meetings that occur at least once or more in a day, density of house occupants and the presence of clinical symptoms of TB. Drugs Resistance Susceptibility test results showed that 12 patients were resistance to TB drugs and one of them was MDR TB from strain LAMP.

Key words : tuberculosis transmission, Spoligotyping, tuberculosis, Jayapura, drugs resistance

Abstrak

Identifikasi galur *Mycobacterium tuberculosis* yang ditemukan pada penderita tuberkulosis paru di Jayapura telah dilakukan dengan menggunakan Spoligotyping. Penderita tuberkulosis paru diambil sebagai kasus indeks. Sampel sputum juga diambil untuk didiagnosis dengan pengecatan Basil Tahan Asam dan kultur bakteri *M.tuberculosis* yang dilakukan pada media padat Lowenstein Jansen, media padat Ogawa serta media cair *Mycobacterium Growth Indicator Tube*. Ekstraksi DNA dilakukan pada koloni *Mycobacterium tuberculosis* untuk dilakukan analisis spoligotyping. Kunjungan rumah pasien dilakukan untuk mengetahui kondisi lingkungan tempat tinggal pasien, mewawancarai kontak kasus dan melakukan skrining infeksi bakteri *M.tuberculosis* pada kasus kontak menggunakan tes Mantoux. Foto dada pada kontak kasus selanjutnya dilakukan di unit radiologi rumah sakit. Hasil spoligotyping menunjukkan 8% (4/50) sampel sputum penderita tuberkulosis adalah *M.tuberculosis* galur Beijing, sedangkan sisanya adalah *M.tuberculosis* galur Non Beijing. Dari 46 galur Non-Beijing, tipe U (likely S) paling banyak ditransmisikan oleh penderita tuberkulosis pada kontakannya yaitu sebanyak 6% (3/50). Penelitian ini mengkonfirmasi faktor-faktor yang mempengaruhi transmisi tuberkulosis meliputi lokasi tidur kontak kasus yang serumah dengan penderita, frekuensi pertemuan yang terjadi sedikitnya sekali atau lebih dalam sehari, kondisi rumah padat penghuni dan adanya gejala klinis TB. Hasil uji resistensi menunjukkan 12 pasien mengalami resistensi terhadap OAT dan 1 diantaranya adalah MDR TB dari strain LAMP.

Kata kunci : Transmisi, Spoligotyping, *Mycobacterium tuberculosis*, tuberkulosis, Jayapura, resistensi

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara peringkat keempat jumlah penderita tuberkulosis (TB) tertinggi di dunia.¹ Papua adalah provinsi dengan prevalensi TB dan HIV tertinggi di Indonesia.² Papua juga memiliki keunikan secara antropologi berkaitan dengan terjadinya isolasi geografis dibandingkan dengan wilayah-wilayah lain di Indonesia.³ Tingginya prevalensi TB dan HIV menjadikan masyarakat rentan dan menjadikan daerah ini potensial sebagai tempat dengan tingkat transmisi TB yang tinggi. Bahkan karena kondisi terisolasi sebelumnya, beberapa populasi di Papua baru terpapar oleh penyakit TB tidak lebih lama dari 60 tahun terakhir.⁴

Penularan TB dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti status gizi dan sanitasi lingkungan, namun di sisi yang tidak kalah penting adalah faktor yang terkait dengan patogen itu sendiri. Menurut van Solingen dkk.³ dan Chaidir dkk.³ genotipe *Mycobacterium tuberculosis* berpengaruh pada faktor *transmissibility* (kemampuan penularan). Genotipe kuman juga memunculkan perbedaan sifat dalam kecepatan bermutasi menjadi resisten.⁵

Teknologi biologi molekuler saat ini dapat membedakan galur *M.tuberculosis* pada pasien TB. Spoligotyping adalah teknik molekuler berbasis hibridisasi DNA yang digunakan untuk mengidentifikasi galur *M.tuberculosis* berdasarkan pada ada atau tidaknya *spacerregion* yang terdapat pada *direct repeat* di genom *M.tuberculosis*. Daerah ini terdiri dari 43 perulangan dan masing-masing perulangan terdiri dari 36 pasangan basa. Setiap perulangan dipisahkan oleh spacer yang akan dideteksi oleh metode Spoligotyping untuk membedakan galur *M.tuberculosis*. Spoligotyping akan menunjukkan pembagian galur tertentu dan dapat memisahkan kelompok galur Beijing terhadap yang lain. Galur Beijing ditandai dengan tidak adanya hibridisasi pada spacer 1-34 dan hibridisasi pada sedikitnya 3 dari 9 spacer terakhir.⁶ Penyebaran galur *M.tuberculosis* pada pasien TB di berbagai belahan dunia menunjukkan adanya beberapa galur yang berhasil mendominasi atau muncul sebagai galur yang 'sukses'. Galur Beijing menjadi salah satu yang paling sering diteliti saat ini karena tingginya proporsi galur

ini pada berbagai populasi penderita TB di Asia. Atas dasar ini timbul beberapa hipotesis bahwa galur Beijing mempunyai kemampuan transmisi yang lebih tinggi.⁷ Di luar hal tersebut, interaksi antara berbagai faktor lingkungan dan pejamu juga penting dinilai karena mungkin memberikan pengaruh terhadap meluasnya sebaran galur ini.⁸

Tingginya tingkat transmisi *M.tuberculosis* dapat dinilai berdasarkan angka kejadian dan angka kesakitan TB di suatu daerah. Angka ini dapat diperoleh dengan pengamatan berkesinambungan pada kelompok kontak kasus penderita TB.⁹ Pemeriksaan kontak kasus adalah metode yang paling sensitif untuk dapat menentukan besaran masalah TB di lingkungan. Di kelompok ini, besaran masalah TB mencapai 4-5x lebih tinggi jika dibandingkan dengan di populasi umum.¹⁰ Di samping untuk tujuan ini, pemantauan kontak kasus juga dapat berkontribusi besar terhadap pengendalian penyakit TB secara keseluruhan di daerah itu. Contohnya di Afrika Barat, hingga 45% kasus yang baru memiliki kontak dengan penderita TB yang mereka kenal.^{11,10} Penemuan kasus TB secara aktif pada kontak kasus di rumah mampu mengidentifikasi individu dengan manifestasi klinis lebih dini dibandingkan dengan deteksi kasus pasif.¹² Skrining kontak kasus secara aktif sangat penting dilakukan karena dengan aktivitas ini kita dapat memotong rantai penularan dengan lebih cepat. Pasien yang terdeteksi dini pada skrining kontak kasus (deteksi kasus aktif) memiliki kecenderungan yang lebih rendah untuk menularkan TB karena umumnya mempunyai kondisi penyakit yang lebih ringan.

Data mengenai galur-galur TB dan karakteristik transmisinya di Provinsi Papua khususnya Kota Jayapura belum pernah diidentifikasi. Data ini sangat diperlukan untuk mendukung program pengendalian TB di Kota Jayapura, terutama sebagai bukti ilmiah untuk mengambil kebijakan pencarian kasus aktif TB di daerah dengan angka kejadian tinggi.

Studi ini bertujuan mengidentifikasi galur *M.tuberculosis* yang menginfeksi penderita TB di Kota Jayapura serta karakteristik galur tersebut dalam kaitannya dalam tranmisibilitas (kemampuan ditularkan) dan resistensinya. Dalam studi ini kami juga melaporkan faktor-faktor yang mempengaruhi terjadinya transmisi Tb.

BAHAN DAN METODE

Waktu, Jenis Penelitian dan Populasi Sampel

Penelitian dilakukan di Kota Jayapura, pada bulan Mei- November 2013 di Rumah Sakit Umum Daerah Jayapura dan tempat tinggal pasien. Jenis penelitian adalah observasional dengan rancangan studi potong lintang. Sampel diambil secara *consecutive* dengan meminta persetujuan keikutsertaan pada responden penelitian dan penandatanganan formulir Persetujuan Setelah Penjelasan (PSP). Populasi sampel adalah seluruh penderita TB dan orang yang tinggal serumah dan atau tinggal di satu rumah di samping kiri dan kanan yang masih berbatasan satu tembok dan sering melakukan kontak intensif dengan penderita tersebut di Kota Jayapura. Sampel penelitian terdiri dari kasus indeks yaitu pasien dengan TB paru positif dan kasus kontak yaitu orang yang tinggal serumah dengan penderita tersebut. Kriteria inklusi kasus indeks adalah umur ≥ 15 tahun, tempat tinggal di Kota Jayapura, hasil pemeriksaan mikroskopik BTA positif pada minimal dua spesimen sputum, hasil kultur positif *M. tuberculosis*, bersedia dikunjungi rumah, dan mempunyai sedikitnya seorang kontak yang tinggal bersama

Kriteria eksklusi untuk pasien indeks adalah subjek menolak menandatangani inform consent, subjek tidak berada di tempat saat dikunjungi, dan subjek meninggal.

Besaran sampel yang diambil adalah seluruh populasi (*whole population*) pasien TB yang datang ke RSUD Jayapura.

Pengumpulan Sputum

Sputum dikumpulkan dari penderita untuk pemeriksaan BTA (untuk skrining awal) dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik RSUD Jayapura. Sampel sputum dengan BTA positif disimpan pada suhu 4°C sebelum dilakukan kultur di Laboratorium Mikrobiologi Balai Litbang Biomedis. Uji kepekaan dan spoligotyping dilakukan di Laboratorium TB Unit Penelitian Kesehatan UNPAD.

Kultur *M. tuberculosis*

Sampel sputum didekontaminasi dengan metode NaOH 2% mengikuti prosedur standar di laboratorium. Hasil dekontaminasi kemudian

akan diinokulasi ke dalam medium Lowenstein Jansen (LJ), Ogawa dan *Mycobacterium Growth Indicator Tube* (MGIT) yang telah ditambah *Oleic Albumin Dextrose Catalase* (OADC) dan kompleks antibiotik *Polymyxin*, *Azlocillin*, *Nalidixic acid*, *Trimethoprim* and *Amphotericin B* (PANTA)[®] (Becton Dickinson). Kultur selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 14-21 hari. Pertumbuhan *M.tuberculosis* akan terdeteksi secara otomatis oleh alat MGIT. Bakteri yang dikultur pada media Ogawa digunakan untuk keperluan spoligotyping sedangkan kultur pada media LJ digunakan untuk keperluan tes resistensi. Media Ogawa dibuat oleh UNPAD sedangkan media LJ yang digunakan adalah media siap pakai dari BD.

Identifikasi *M.tuberculosis* dilakukan dengan pengamatan morfologi koloni. Koloni yang memiliki karakteristik berwarna putih pucat dan keras pada media LJ dan Ogawa diidentifikasi sebagai *M.tuberculosis*.

Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan menggunakan kit ekstraksi QIAamp Mini Kit (Qiagen, German) sesuai dengan petunjuk yang ditentukan dengan modifikasi perlakuan sonikasi. Dari semua sampel kuman *M. tuberculosis* yang tumbuh pada medium Ogawa dilakukan ekstraksi DNA. Sampel diambil pada sekitar minggu ke-3 pertumbuhan setelah menunjukkan adanya jumlah koloni yang cukup. Koloni yang tumbuh pada media padat Ogawa diambil sebanyak 1 ose dan ditempatkan 200 μ l Posphate Buffer Saline (PBS) dari Dubelco. Pellet koloni dihancurkan menggunakan sonikator selama 1 menit. Ekstraksi DNA dilanjutkan dengan mengikuti prosedur pada kit mini column.

Spoligotyping

Spoligotyping dilakukan menggunakan kit spoligotyping (Ocimum[®], Biosplution< Hyderabad, India) dengan prosedur sesuai dengan buku manual yang diterbitkan oleh perusahaan. Produk DNA diamplifikasi pada fragmen gen *Direct Repeat* (DR) menggunakan primer DRa (5'GGTTTTGGGTCTGACGAC3') dan DRb(5'CCGAGAGGGGACGGAAAC3' yang tersedia pada kit. Campuran rekasi PCR dibuat dengan formula: 2 μ l templat DNA, 4 μ l primer DRa (20 pmol), 4 μ l primer DRb (20 pmol), 4

μ l dNTP, 5 μ l 10x buffer Super T (Ocimum), 0,1 μ l Super T polymerase 5 unit/ μ l (Ocimum) dan MQ water (Ocimum) sampai total volume 50 μ l. Amplifikasi DNA dilakukan pada kondisi pre denaturasi 96°C selama 3 menit, denaturasi 96°C selama 1 menit, annealing 55°C selama 1 menit dan elongasi 72°C selama 30 detik, siklus ini dilakukan sebanyak 20 kali dan diakhiri dengan elongasi pada suhu 72°C selama 5 menit.⁵

Membran dan support cushion ditempatkan pada miniblitter. Produk PCR dipipet sebanyak 20 μ l pada 150 μ l 2xSSPE/0,1 % SDS (Ocimum). Larutan ini dimasukkan pada slot miniblitter. Hibridisasi dilakukan selama 60 menit pada oven inkubator yang bersuhu 60°C. Sampel selanjutnya diaspirasi dari miniblitter dan membran diangkat menggunakan pinset. Membran dicuci pada 250 μ l 2xSaline-Sodium Phosphate-EDTA (SSPE)/0,5% Sodium Dodecyl Sulfat (SDS) (Ocimum) selama 10 menit pada suhu 45°C. pembilasan pada 250 μ l 2xSSPE/0,5% SDS dilakukan sebanyak dua kali pada suhu ruang masing-masing selama 5 menit sesuai petunjuk manual produk. Membran dimasukkan dalam plastik dan direndam dalam 20ml *Enhanced Chemiluminescence* (ECL) (Ocimum®) selama 1 menit. Pola hibridisasi dibaca di ruang gelap dengan menempelkan x-ray hyper film pada membran selama 20-30 menit. Pola blotting yang tampak pada film selanjutnya digunakan untuk menentukan galur *M.tuberculosis* dengan melakukan perbandingan dengan spol data base 1.135

Uji Kepekaan Obat Anti Tb atau *Drug Susceptibility Test* (DST)

Drug Susceptibility Test (DST) dilakukan menggunakan prosedur WHO dalam manual laboratorium *Research Institute of Tuberculosis*.¹⁴ Suspensi obat anti TB yang digunakan meliputi INH (20mg/ml), Rifampicin (4000mg/ml), Ethambutol (200mg/ml) dan *Streptomycin* (400mg/ml). Suspensi obat ini dilarutkan dalam media standard Lowenstein Jansen. Sebanyak 20ml suspensi obat dilarutkan dalam 200ml media. Media dibagi dalam tabung *Mc.Cartney* sebanyak 6 ml per tabung. Kontrol adalah media Lowenstein Jansen yang tidak mengandung obat. Koloni bakteri yang digunakan untuk uji adalah koloni bakteri *M.tuberculosis* H37RV dengan konsentrasi 10⁻² (0,01mg/ml) dan 10⁻⁴

(0,0001mg/ml) sebagai control dan koloni dari sputum pasien. Sebanyak 100 ul untuk masing-masing konsentrasi diinokulasikan pada media baik media kontrol maupun media yang mengandung obat antituberkulosis (OAT). Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 6 minggu. Setelah masa inkubasi dilakukan pengamatan pertumbuhan koloni.¹⁴

Penentuan Tingkat Pejanan Pada Kontak Kasus

Definisi kontak kasus adalah orang yang tinggal serumah dengan penderita atau tinggal dalam satu lingkungan yang sama dan menghabiskan sebagian besar waktunya dengan penderita. Kontak kasus akan dicari melalui kunjungan rumah.

Kunjungan rumah bertujuan untuk mengobservasi kondisi rumah serta lingkungan tempat penderita TB banyak melakukan aktifitas dan menggambarkan tempat tinggal sehubungan dengan kasus TB. Pada kunjungan rumah dilakukan wawancara pada seluruh kontak kasus yang memenuhi definisi kontak kasus. Wawancara yang dilakukan meliputi data demografi kontak, frekuensi pertemuan kontak dengan penderita TB, lama tinggal bersama dan intensitas kedekatan (tempat tidur antara kontak dan pasien).

Pada kunjungan ini juga dilakukan pemeriksaan parut vaksin BCG dan tes Mantoux. Tes Mantoux dilakukan melalui penyuntikan 0,1 ml larutan tuberkulin secara intradermal di lengan dalam oleh petugas TB yang tersertifikasi. Jika terjadi reaksi lokal yaitu kemerahan dan indurasi maka hasil dinyatakan positif. Evaluasi dilakukan 48-72 jam setelah penyuntikan. Diameter indurasi diukur dalam millimeter, tidak termasuk area eritema (kemerahan) disekitarnya. Bila diameter indurasi > 10 mm, tes dinyatakan positif.

Kontak penderita selanjutnya diberi rujukan untuk melakukan foto dada di unit radiologi RS Dian Harapan. Hasil foto dada dibaca oleh dokter untuk mengetahui gejala TB yang tergambar pada foto.

Analisis Data

Analisis univariat dilakukan untuk mengetahui karakteristik kasus kontak. Analisis bivariat dan multivariat dilakukan untuk melihat faktor-faktor yang mempengaruhi transmisi

kuman. *M.tuberculosis*. Analisis ini dilakukan menggunakan perangkat SPSS 18 (IBM). Pembacaan pola hibridisasi untuk mengetahui tipe galur *M.tuberculosis* dilakukan secara manual dengan membandingkan pola spoligotyping dengan peta Spol Data Base.

HASIL

Pasien TB yang berhasil direkrut dalam penelitian ini berjumlah 75 orang. Semua responden tergolong dalam kelompok pasien baru. Karakterisasi subyek penelitian disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Indeks Penderita TB Paru di Kota Jayapura

Karakteristik	Jumlah (N: 75)
Umur (mean, range) tahun	32,4 (15 – 72)
Jenis kelamin (%)	
Laki-laki	39 (52,0)
Perempuan	36 (48,0)
Suku (%)	
Papua	49 (65,3)
Non Papua	26 (34,7)
Pendidikan(%)	
Tidak sekolah	3 (4,0)
SD	10 (13,3)
SMP	15 (20,0)
SMU	41 (54,7)
Universitas	6 (8,0)
Pekerjaan(%)	
Tidak bekerja	12 (16,0)
Pegawai	9 (12,0)
Wiraswasta	20 (26,7)
Ibu Rumah Tangga	14 (18,7)
Pelajar/Mahasiswa	15 (20,0)
Lain-lain	5 (6,7)
Riwayat DM (%)	
Ya	7 (9,3)
Tidak	68 (90,7)
BTA (%)	
+ 1	38 (50,7)
+ 2	13 (17,3)
+ 3	24 (32,0)
Kepadatan Rumah (%)	
Padat	54 (72,0)
Tidak Padat	21 (28,0)

Karakteristik penderita TB paru di Kota Jayapura menunjukkan bahwa penderita terbanyak adalah laki-laki, berasal dari suku Papua, tingkat pendidikan terbanyak adalah SMU. Pasien-pasien tersebut sebagian besar tidak memiliki riwayat

diabetes militus. Berdasarkan pemeriksaan BTA didapatkan bahwa sebagian besar pasien adalah TB positif.¹ Hasil wawancara menunjukkan sebagian besar pasien tinggal di hunian yang padat.

Gambar 1 menunjukkan pola-pola visulisasi hasil spoligotyping pada penelitian ini. Sebanyak 50 sampel TB berhasil dikultur dan diproses untuk dilakukan spoligotyping dan uji resistensi. Tipe-tipe galur TB berdasarkan spoligotyping dan hasil uji kepekaan obat ditunjukkan pada tabel.² Dari 50 sampel *Mycobacterium tuberculosis* yang berhasil di spoligotyping didapatkan bahwa strain yang terdistribusi di Papua terdiri dari Galur Beijing dan Non Beijing Strain. Galaur Non Beijing yang berhasil diidentifikasi dari pasien TB paru Kota Jayapura terdiri dari EA, H, LAM, CEU, EA dan Manila.

Pada Tabel 2 juga ditunjukkan jumlah kontak serumah yang menunjukkan gejala TB berdasarkan hasil foto rontgen. Menurut Tabel 2, terdapat satu orang kontak serumah yang menunjukkan gejala TB dari pasien terinfeksi galur EAI5, satu orang kontak bergejala serumah dengan pasien terinfeksi galur T1, satu orang serumah dengan pasien terinfeksi galur T4, satu orang serumah dengan pasien T5, dan tiga orang serumah dengan pasien terinfeksi galur U (LikelyS). Hasil uji kepekaan menunjukkan bahwa terdapat 12 pasien yang resisten terhadap obat. Satu diantara 12 tersebut tergolong dalam MDR karena peka terhadap 2 obat Rifampicin dan Isoniaid. Galur yang rseiten tersebut adalah galur U (LikelyS).

Tabel 3 menunjukkan karakteristik 593 kontak kasus yang berasal dari 75 pasien TB yang merupakan kasus indek (Tabel 1). Untuk melihat transmisi kuman *M.tuberculosis* dari pasien positif TB ke orang-orang yang tinggal serumah dengan pasien tersebut maka dilakukan tes mantaoux dan rontgen dada pada kontak kasus

Parameter tempat tidur kontak dengan penderita, kedekatan kontak, kepadatan rumah dan imunisasi BCG kontak dipelajari dalam penelitian ini untuk mengetahui faktor yang mempengaruhi transmisi Tb. Hasil analisis disajikan pada Tabel 4. Berdasarkan table 4 yang berhubungan signifikan dengan transmisi TB adalah posisi tempat tidur kontak dengan penderita, kepadatan rumah dan keberadaan parut BCG.



Gambar 1. Pola spoligotyping galur *M.tuberculosis* dari penderita TB paru (SpolDB)

Tabel 2. Hasil identifikasi spoligotyping galur *M.tuberculosis*, uji kepekaan Obat Anti TB (OAT) dan rontgen positif pasien kontak.

Galur	Jumlah	Resistensi Terhadap OAT	Rontgen positif pasien kontak
Beijing	4	1 (INH)	0
Non-Beijing			
EA12 Manila	7	1(INH)	0
EAI5	1	0	0
H3	3	0	1
LAM1	2	1 (Streptomisin)	0
LAM8	2	2 (Ethambutol-Streptomisin)	1
LAM9	8	4 ((1) INH -Streptomisin,(3) Streptomisin)	0
Manu2	1	0	0
Orphan	8	1 (Ethambutol)	0
T1	2	0	0
T1 (T4-CE1 ancestor)	5	0	1
T3	1	0	0
T4_CEU1	2	0	1
T5Rus1	1	0	1
U (likely S)	3	2 ((1) Streptomisin, (1) Rifampisin-INH)	3
Jumlah Total	50	12	8

Tabel 3. Karakteristik Kontak Kasus

Karakteristik	Jumlah (N: 593)
Umur (mean, range) tahun	25,2 (1 - 85)
Jenis kelamin (%)	
Laki-laki	296 (50,0)
Perempuan	296 (50,0)
Tempat tidur subyek dengan penderita (%)	
Serumah satu kamar	60 (10,1)
Serumah beda kamar	352 (59,4)
Berbeda rumah	181 (30,5)
Kedekatan kontak (%)	
Bertemu lebih dari sekali tiap hari	266 (44,9)
Bertemu sekali setiap hari	260 (43,8)
Setiap minggu	31 (5,2)
Jarang	36 (6,1)
Lama kontak (mean,range) tahun	9,9 (0,5 – 44)
Parut BCG (%)	
Tidak ada	106 (17,9)
Ada	487 (82,1)
Pembesaran limfonodi leher (%)	
Ada	31 (5,2)
Tidak ada	563 (94,8)
Gejala TB (%)	
Bergejala	95 (16,0)
Tidak bergejala	498 (84,0)
Test Mantoux (%)	
Tidak dilakukan	112 (18,9)
Positif	77 (13,0)
Negatif	404 (68,1)
Positif TB Berdasar Ronsen (%)	
Tidak dilakukan	432 (72,8)
Positif	15 (2,5)
Negatif	146 (24,7)

Tabel 4. Sebaran Tes Mantoux dan Rontgen Dada Positif Berdasarkan Karakteristik Subyek

Karakteristik	Tes Mantoux (N:481)		<i>P-value</i>	Ronsen dada (N:161)		<i>P-value</i>
	Positif	Negatif		Positif	Negatif	
	(n; %)	(n; %)		(n; %)	(n; %)	
Serumah satu kamar	15 (19,5)	35 (8,7)		3 (20,0)	18 (12,3)	
Serumah beda kamar	47 (61,0)	219 (54,2)		12 (80,0)	99 (67,8)	
Berbeda rumah	15 (19,5)	150 (37,1)	0,00*	0 (0,0)	29 (19,9)	0,14
Kedekatan kontak						
Bertemu >sekali tiap hari	36 (46,8)	213 (52,7)		8 (53,8)	47 (32,2)	

Bertemu sekali setiap hari	37 (48,1)	140 (34,7)		7 (46,7)	90 (61,6)	
Setiap minggu	1 (1,3)	30 (7,4)		0 (0,0)	2 (1,4)	
Jarang	3 (3,9)	21 (5,2)	0,06	0 (0,0)	7 (4,8)	0,36
Kepadatan Rumah						
Padat	61 (79,2)	268 (66,3)		11 (73,3)	118 (80,8)	
Tidak Padat	16 (20,8)	136 (33,7)	0,03*	4 (26,7)	28 (19,2)	0,49
Parut BCG						
Tidak ada	23 (29,9)	48 (11,9)		6 (40,0)	46 (31,5)	
Ada	54 (70,1)	356 (88,1)	0,00*	9 (60,0)	100 (68,5)	0,50

PEMBAHASAN

Pola spoligotyping pada film dianalisis dan dibuat diagram untuk menampilkan hasil pemeriksaan sampel (Gambar 1). Hasil spoligotyping menunjukkan bahwa galur *Mycobacterium tuberculosis* terdiri dari galur Beijing (4/50) dan non Beijing (46/50) (Gambar 1). Penelitian sebelumnya ditemukan bahwa galur Beijing adalah galur yang sangat pathogen dalam arti mudah ditransmisikan dan cepat mengalami resistensi.¹⁵ Galur Beijing terdistribusi secara meluas terutama di negara-negara Asia, Afrika, Eropa, Australia, Amerika dan Amerika Latin.⁷ Penelitian oleh Chaidir dkk. menunjukkan bahwa sebagian besar (82,7%) galur TB di Kota Jayapura merupakan tipe Non-Beijing.¹⁶ Penelitian Lisdawati dkk. mengungkapkan bahwa galur Beijing ini merupakan salah satu faktor risiko terhadap kegagalan terapi TB di Indonesia.¹⁷ Dalam penelitian ini didapatkan bahwa di Papua justru galur non Beijing yang paling mendominasi. Galur non Beijing didapatkan banyak mengalami resisten terhadap OAT yaitu Rifampicin, streptomycin dan INH. Penelitian ini juga mengungkapkan bahwa galur non Beijing dalam studi ini memiliki tingkat penularan atau transmisi yang lebih tinggi daripada galur Beijing (Tabel 2). Hal ini disebabkan karena memang galur non Beijing lebih banyak terdistribusi di Papua.³

Galur non Beijing terdiri atas EAI, H, LAM, MANU, Orphan, T dan U, dimana proporsi galur terbanyak adalah LAM (12/50). LAM memiliki beberapa sub tipe (LAM 1-LAM 11),

terdistribusi di beberapa negara di Amerika, Eropa, Asia, Afrika dan Asia, tetapi tidak seluas distribusi galur Beijing. Pada penelitian ini subtype galur LAM yang ditemukan adalah LAM1, LAM 8 dan LAM 9 (Gambar 1). Menurut SpolDB 418, LAM 1 terdistribusi di Amerika Latin (Argentina, Brazil dan Mexico), Eropa (Spanyol, Finlandia, Belgia, Finlandia, Belanda, Rusia), Afrika (Camerun, Haiti, Libya) dan Asia (Filipina, Vietnam dan Indonesia). LAM 8 terdistribusi sempit hanya di negara-negara seperti Australia, Perancis, Indonesia, Guadeloupe, Malaysia dan USA. Subtipe LAM 9 memiliki distribusi Belgia, Uganda, USA dan Belanda.¹⁸ Galur T(11/50) juga ditemukan pada penelitian ini, yang berdasar database memiliki distribusi terbatas di USA, Argentina, Mexico, Malaysia dan Vietnam. Galur T yang ditemukan pada penelitian ini adalah T1, T1 (T4-CE 1 Ancestor), T3, T4-CUI, dan T5 Rus1. Galur *Mycobacterium tuberculosis* terbanyak berikutnya yang ditemukan dalam penelitian ini adalah Galur East Afrika. Galur East Afrika (EA) terdistribusi di banyak negara di Afrika, USA dan beberapa Negara di Eropa. Galur EA di Asia ditemukan di Malaysia, Filipina dan Vietnam. Jenis Galur EA yang ditemukan dalam penelitian ini adalah EA12 Manila.

Karakteristik kasus TB (Tabel 1) dalam studi ini sebagian besar menunjukkan hasil pemeriksaan BTA positif 1 dan positif.³ Penderita yang bekerja sebagai wiraswasta memiliki angka terbanyak. Sebagian besar pasien tinggal di rumah yang padat. Hal ini sesuai dengan kebiasaan masyarakat Papua yang tinggal bersama dalam rumah lebih dari 1 keluarga. Pada penelitian ini

pasien yang direkrut sebagian besar tidak memiliki riwayat Diabetes Mellitus (DM).

Hasil kunjungan rumah penderita TB untuk mengobservasi tingkat transmisi TB pada kontak kasus serumah menunjukkan beberapa faktor yang dapat mempengaruhi transmisi TB antara penderita dengan kontak kasus (Tabel 2). Terdapat 593 subyek kontak kasus dengan test Mantoux positif sebanyak 77 subyek (13,0%) dan 15 (2,5%) subyek dengan ronsen dada positif TB. Tabel 1 menunjukkan bahwa kontak kasus yang tinggal serumah dengan pasien TB sebagian besar tidur di kamar terpisah dengan pasien (59,4%), bertemu lebih dari sekali dalam sehari dengan penderita (44,9%) dan belum atau tidak menunjukkan gejala klinis TB (84,0%).

Untuk mengetahui faktor yang paling mempengaruhi transmisi TB dari pasien kepada kontak, maka dilakukan analisis multivariate antara karakteristik pasien dengan hasil tes mantoux (tabel 3). Tes Mantoux positif menandakan bahwa subyek telah terinfeksi TB baik aktif maupun laten, sedangkan foto ronsen dada dapat digunakan untuk membantu penegakan diagnosis TB paru.

Karakteristik kedua kelompok ini baik kelompok tes Mantoux maupun ronsen dada positif memiliki kemiripan, salah satunya adalah lokasi tempat tidur yang berada satu rumah (gedung) dengan penderita namun di kamar yang berbeda. Lokasi tidur dinilai karena hampir sepertiga waktu dalam satu hari digunakan untuk tidur. Kondisi bahwa kontak kasus baik yang positif tes Mantoux maupun positif rontgen tidur di dalam rumah yang sama namun berbeda kamar tidur, sesuai dengan karakteristik kontak kasus secara umum, yang dalam penelitian ini didominasi oleh subyek yang tidur berada di rumah yang sama dengan penderita namun berbeda kamar (59,4%) Namun terlihat bahwa hubungan yang bermakna secara statistik terjadi antara lokasi tidur dengan hasil tes Mantoux positif ($P= 0,00$) Penelitian di Gambia mengungkapkan keadaan serupa, dimana mayoritas kontak kasus tidur serumah dengan penderita namun berada di kamar tidur yang berbeda.¹² Dalam penelitian ini tidak dianalisis lebih lanjut faktor yang menyebabkan kontak

yang tidak sekamar lebih banyak tertransmisi dengan kontak yang sekamar. Menurut studi yang dilakukan di Gambia hal ini diprediksi ada faktor variasi sistem kekebalan tubuh pada anggota serumah.

Variabel yang dinilai berikutnya adalah kedekatan kontak kasus dan penderita dengan cara menilai intensitas pertemuan. Pertemuan antara penderita dengan kontak kasus tes Mantoux positif adalah bertemu sekali setiap hari, sedangkan pada kontak kasus ronsen dada positif adalah bertemu lebih dari satu kali setiap harinya. Variabel kedekatan kontak kasus ini tidak bermakna secara statistik baik pada kelompok tes Mantoux maupun pada kelompok ronsen dada. Telah diketahui bahwa semakin tinggi intensitas bertemu dengan penderita TB aktif akan makin meningkatkan resiko penularan TB. *Hill et al* mengungkapkan bahwa jumlah kontak kasus dengan tes Mantoux positif lebih tinggi pada kontak kasus yang bertemu dengan penderita lebih dari 12 jam, dibandingkan kontak kasus yang bertemu penderita kurang dari empat jam sehari.¹² Analisa lanjutan untuk menilai asumsi antara variabel lokasi tidur dan kedekatan kontak perlu dilakukan, sebab pada beberapa kasus akan muncul hal-hal seperti subyek kontak kasus yang tidur sekamar dengan penderita namun jarang pulang ke rumah penderita, atau sebaliknya.

Kepadatan penghuni rumah menentukan transmisi tuberkulosis dari penderita ke kontak kasus. Tempat tinggal tergolong tidak padat apabila ruang gerak yang tersedia bagi penghuninya tidak lebih dari dua individu per delapan meter persegi. Pada penelitian ini, tampak bahwa kontak kasus dengan tes Mantoux maupun foto rontgen dada positif TB berasal dari rumah yang berpenghuni padat, yaitu masing-masing 72,0% dan 73,3%. Analisa secara statistik membuktikan bahwa terdapat hubungan yang bermakna antara kepadatan rumah dengan tes Mantoux, namun tidak bermakna pada ronsen dada. Hal ini juga didukung oleh suatu penelitian di Ethiopia yang melihat pengaruh kepadatan suatu hunian terhadap TB laten, dimana makin padat hunian akan meningkatkan kemungkinan terjadinya infeksi laten TB. Selain faktor lingkungan yang

berpengaruh terhadap penularan TB, faktor agen dan pejamu juga mempunyai peranan.

Parut BCG dinilai pula dalam penelitian ini. Parut BCG menunjukkan bahwa subyek pernah mendapatkan vaksinasi BCG di saat bayi. Persentase subyek dengan parut BCG pada kelompok kontak kasus tes Mantoux positif berjumlah 70,1% sedangkan dari kelompok ronsen dada positif TB sebesar 60%. Pada penelitian terungkap bahwa Persentase subyek yang memiliki parut BCG justru lebih tinggi pada kedua kelompok dengan hasil positif, baik tes Mantoux maupun ronsen positif. Hubungan statistik yang bermakna terdapat pada subyek dengan tes Mantoux positif. Vaksin *Bacille Calmette-Guerin* (BCG) merupakan vaksin yang seringkali diberikan pada bayi dengan tujuan pencegahan infeksi TB. Namun vaksin ini tidak efektif untuk mencegah infeksi primer TB paru saat dewasa. BCG hanya dapat menghindarkan seseorang dari resistensi dan kondisi infeksi TB yang lebih berat, seperti meningitis TB. Sehingga subyek dengan parut BCG mungkin saja didapati terinfeksi TB baik laten maupun TB paru aktif.¹⁹

Lima puluh subyek yang teridentifikasi sub tipe bakterinya, memiliki 8 orang kontak serumah dengan foto rontgen dada positif, dengan frekuensi tertinggi pada sub tipe Non Beijing yaitu tipe U (likely S) sebanyak 3 (6,0%) kontak serumah ronsen positif, sedangkan tipe Beijing memiliki kontak serumah ronsen positif sebanyak 1(2,0%) subyek. Kondisi tersebut berbeda dengan beberapa penelitian yang mengungkap keunggulan tipe Beijing dibanding sub tipe lainnya. Penelitian pada hewan coba membuktikan tipe Beijing lebih virulen, berdasarkan tampilan histopatologi, pertumbuhan kuman dan tingkatan angka kesakitan yang lebih tinggi.¹⁷ Ada beberapa hambatan saat melakukan pemeriksaan DST maupun spoligotyping, misalnya: adanya kontaminasi dan gagalnya pertumbuhan kultur. Terjadinya transmisi TB dari penderita sesungguhnya dipengaruhi oleh beberapa faktor yang saling berkaitan, misalnya faktor geografis dimana seseorang yang tinggal di daerah endemis TB, akan lebih mudah terinfeksi. Faktor lainnya

adalah: kepadatan penghuni dan kondisi tempat tinggal, status gizi, imunodefisiensi, virulensi dan densitas kuman, serta faktor genetik. Pada penelitian ini dapat terlihat bahwa faktor-faktor yang dominan pada kontak kasus dengan tes Mantoux dan rontgen dada positif adalah: lokasi tempat tidur kontak kasus yang berada satu rumah dengan penderita namun berada di kamar yang berbeda, bertemu dengan penderita sekurangnya sekali atau lebih dalam sehari, kondisi rumah yang padat dan parut BCG.

Kelemahan penelitian ini adalah semua responden adalah pasien baru sehingga tidak bisa membedakan dengan pasien *loss of follow up* atau kambuh. Disamping itu beberapa sampel tidak mendapatkan hasil spoligotyping yang baik. Namun demikian hasil studi ini didapatkan gambaran strain TB yang terdistribusi di Jayapura, strain yang menunjukkan kemampuan transmisi dan juga strain yang mengalami resistensi obat.

KESIMPULAN

Hasil spoligotyping menunjukkan dari 50 sampel sputum penderita diperoleh 4 (8,0%) *Mycobacterium tuberculosis strain* Beijing, sedangkan sisanya adalah Non Beijing. Penderita dengan tipe U (likely S) memiliki jumlah kontak serumah rontgen dada positif tertinggi sebanyak 3 (6,0%) subyek. Faktor-faktor yang mempengaruhi transmisi TB di Kota Jayapura yang dapat diidentifikasi, yaitu: lokasi tidur kontak kasus yang serumah namun berbeda kamar dengan penderita, pertemuan sedikitnya sekali atau lebih dalam sehari, kondisi rumah yang padat dan adanya gejala klinis TB. Transmisi juga lebih banyak terjadi dari penderita dengan jumlah BTA +1.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih pada pihak-pihak yang telah berkontribusi pada penelitian ini yaitu: Kepala Dinas Kesehatan Kota Jayapura, dr. Fitri Darsono dari Poliklinik Paru RSUD Jayapura, dr Juliwati Aronggear, SpPK dari Laboratorium Patologi Klinik RSUD Jayapura

dan dr. Jessi Anisa M.Si dari Unit Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran UNPAD.

DAFTAR RUJUKAN

1. World Health Organization. Global Tuberculosis Control 2010. Jeneva : WHO; 2010.
2. Alisjahbana B, Mahendratama Y, Widjanarko B, Tarigan LH, Umbul C, Simon S, et al. Riset Operasional Tuberkulosis Tahun 2005 – 2009. Alisjahbana B, Mahendratama Y, Widjanarko B, editors. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI; 2011.
3. Diseases C. Guidelines For Drug Susceptibility Testing For Second-Line Anti-Tuberculosis Drugs For Dots-Plus. Geneva : World Health Organization; 2001.
4. Rubel AJ, Garro LC. Social and Cultural Factors in the Successful Control of Tuberculosis. Public Heal Res. 1992;107(8).
5. Soolingen D Van, Qian L, Haas PE De, Douglas JT, Traore H, Qing HZ, et al. Predominance of a single genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in countries of Predominance of a Single Genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in Countries of East Asia. 1995.
6. David S, Ribeiro DR, Antunes A, Portugal C, Sancho L, de Sousa JG. Contribution of Spoligotyping to the characterization of the population structure of *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Portugal. Infect Genet Evol [Internet]. 2007 Sep [cited 2016 Jan 7];7(5):609–17. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17625987>.
7. Gagneux S, Riemer, De K, Van T, Maeda MK, de Joung B, Narayanan S, et al. Variable host – pathogen compatibility in *Mycobacterium tuberculosis*. 2006;103(8):2869–73.
8. Lopez B, Aguilar D, Burger M, Espitia C, Ritaco V, Barrera L, et al. A marked difference in pathogenesis and immune response induced by different *Mycobacterium tuberculosis* genotypes. 2003;12–4.
9. Hill PC, Ota MOC. Tuberculosis case-contact research in endemic tropical settings: design, conduct, and relevance to other infectious diseases. Lancet Infect Dis [Internet]. 2010 Oct [cited 2016 Feb 13];10(10):723–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20883968>.
10. Guwatudde D. Tuberculosis in Household Contacts of Infectious Cases in Kampala, Uganda. Am J Epidemiol [Internet]. 2003 Nov 1 [cited 2016 Feb 13];158(9):887–98. Available from: <http://aje.oupjournals.org/cgi/doi/10.1093/aje/kwg227>.
11. Jackson-Sillah D, Hill PC, Fox A, Brookes RH, Donkor S a, Lugos MD, et al. Screening for tuberculosis among 2381 household contacts of sputum-smear-positive cases in The Gambia. Trans R Soc Trop Med Hyg [Internet]. 2007 Jun [cited 2016 Feb 13];101(6):594–601. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17368495>.
12. Hill PC, Brookes RH, Fox A, Fielding K, Jeffries DJ, Jackson-sillah D, et al. Large-Scale Evaluation of Enzyme-Linked Immunospot Assay and Skin Test for Diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* Infection against a Gradient of Exposure in The Gambia. 2004;38:0–7.
13. Biosolutions O. Spolygotyping User Â€™ S Manual A Pcr-Based Method To Simultaneously Detect And Type. Ocimum; 2010.
14. Diseases C. Guidelines For Drug Susceptibility Testing For Second-Line Anti-Tuberculosis Drugs For Dots-Plus. World Health Organization; 2001.
15. Li X, Xu P, Shen X, Qi L, DeRiemer K, Mei J, et al. Non-Beijing strains of *Mycobacterium tuberculosis* in China. J Clin Microbiol [Internet]. 2011 Jan [cited 2016 Feb 13];49(1):392–5. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3020470&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
16. Chaidir L, Sengstake S, Beer J De, Krismawati H, Lestari FD, Ayawaila S. *Mycobacterium tuberculosis* genotypic drug resistance patterns and clustering in Jayapura , Papua , Indonesia. 2015;19(May 2014):428–33.

17. Lisdawati V, Puspandari N, Rif L, Soekarno T, Melatiwati M, Syamsidar K, et al. Molecular epidemiology study of *Mycobacterium tuberculosis* and its susceptibility to anti-tuberculosis drugs in Indonesia. *BMC Infect Dis* [Internet]. 2015;1–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12879-015-1101-y>
18. Institut Pasteur de la Guadeloupe. SpolDB [Internet]. 2011 [cited 2017 Oct 31]. Available from: http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT_ONLINE.
19. Briassoulis G, Karabatsou I, Gogoglou V, Tsorva A. *Journal of Immune Based Therapies* BCG vaccination at three different age groups : response and effectiveness. 2005;12:1–12.