

Deteksi Gen Jamur *Candida* spp. pada Swab Tenggorok Penderita Tuberculosis dengan Metode Polymerase Chain Reaction

Detection of Fungal Gene of *Candida* spp. from Throat Swab of Tuberculosis Patient with Polymerase Chain Reaction Method

Anwar, Aan Yulianingsih; Basri, Acce; Jakaria, Febrianti

Aan Yulianingsih Anwar

aanyulianingsih@rocketmail.com

Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes
Kemenkes Ternate, Indonesia

Acce Basri

Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes
Kemenkes Ternate, Indonesia

Febrianti Jakaria

Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes
Kemenkes Ternate, Indonesia

Health Information: Jurnal Penelitian

Poltekkes Kemenkes Kendari, Indonesia

ISSN: 2085-0840

ISSN-e: 2622-5905

Periodicity: Bianual

vol. 14, no. 1, 2022

jurnaldanhakcipta@poltekkes-kdi.ac.id

Received: 07 February 2022

Accepted: 20 June 2022

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/504/5043270003/>

DOI: <https://doi.org/10.36990/hiip.v14i1.459>

Funding

Funding source: Poltekkes Kemenkes Ternate

Contract number: HK.02.03/1/1119/2021

Corresponding author: aanyulianingsih@rocketmail.com

Authors retain copyright and grant the journal right of first publication with the work simultaneously licensed under a Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License that allows others to share the work with an acknowledgment of the works authorship and initial publication in this journal and able to enter into separate, additional contractual arrangements for the non-exclusive distribution of the journals published version of the work (e.g., post it to an institutional repository or publish it in a book).



This work is licensed under Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International.

Ringkasan: Tuberculosis paru merupakan penyebab utama kematian yang dikaitkan dengan kompleks *Mycobacterium tuberculosis* secara global. Angka kejadian tuberkulosis dihitung sebagai membagi jumlah kasus penyakit baru dalam setahun dalam seratus ribu populasi. Banyak faktor resiko terkait dengan TB yaitu koinfeksi dengan jamur *Candida* spp. Koeksistensi antara patogen jamur dan TB paru adalah suatu kondisi klinis yang umumnya terjadi pada pasien immunosupresif. Maka diperlukan adanya skrining pada penderita pasien tuberculosis yang berkoinfeksi dengan *Candida* spp, terutama dalam kasus pasien dengan respons yang tidak adekuat terhadap terapi OAT. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui gen *Candida* spp pada swab tenggorok pasien penderita TB di Puskesmas Kalumata. Metode yang digunakan yaitu deskriptif analitik dengan desain Cross Sectional. Adapun gen yang digunakan yaitu *C. albicans* (665 bp), *C. parasilopsis* I (837 bp), *C. parasilopsis* II (310 bp), *C. guilliermondii* (205 bp) dan *C. lusitanae* (799 bp). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 30 sampel ditemukan 7 sampel (23,3%) Spesies *Candida albicans*, *Candida parasilopsis* II sebanyak 8 sampel (26,7%) dan 15 sampel negatif (50%). Kesimpulan dari penelitian ini yaitu dari 30 sampel terdeteksi 15 sampel yang mempunyai gen *Candida* spp.

Kata kunci: *Candida*, Gen jamur, Polymerase Chain Reaction, Tuberculosis.

Abstract: Pulmonary tuberculosis is the leading cause of death associated with the *Mycobacterium tuberculosis* complex globally. The incidence of tuberculosis is calculated as dividing the number of new cases of the disease in a year in one hundred thousand population. Many risk factors associated with TB are coinfection with the fungus *Candida* spp. Coexistence between fungal pathogens and pulmonary TB is a common clinical condition in immunosuppressed patients. Thus, there is a need for screening in patients with tuberculosis co-infected with *Candida* spp, especially in cases of patients with inadequate response to OAT therapy. The purpose of this study was to determine the *Candida* spp gene in throat swabs of TB patients at the Kalumata Health Center. The method used is descriptive analytic with a cross sectional

design. The genes used were *C. albicans* (665 bp), *C. Parasilopsis* I (837 bp), *C. Parasilopsis* II (310 bp), *C. guilliermondii* (205 bp) and *C. lusitaniae* (799 bp). The results showed that from 30 samples found 7 samples (23,3%) *Candida albicans* species, *Candida parasilopsis* II as many as 8 samples (26.7%) and 15 samples were negative (50%). The conclusion of this study is that from 30 samples, 15 samples were detected that had the *Candida spp* gene.

Keywords: Candida, Fungal gene, Polymerase Chain Reaction, Tuberculosis.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi (*infectious disease*) yang juga dikenal sebagai *communicable disease* atau *transmissible disease* merupakan suatu penyakit yang secara klinik terjadi akibat dari keberadaan dan pertumbuhan agen biologik patogenik pada organisme host individu. Penularan patogen dapat terjadi melalui berbagai cara yang meliputi kontak fisik, makanan yang terkontaminasi, cairan tubuh, benda, inhalasi yang ada di udara atau melalui organisme vector (Duarsa et al., 2020).

Tuberkulosis (TBC) merupakan penyakit menular dan merupakan ancaman serius bagi manusia. Organisasi Kesehatan Dunia pada tahun 2016 menyebutkan ada 9,6 juta orang terdeteksi kasus baru tuberkulosis dan 1,5 juta mengalami kematian (Fontalvo et al., 2016). Secara global, tuberkulosis paru merupakan penyebab utama kematian yang disebabkan oleh *Mycobacterium* tuberkulosis, tuberkulosis (TBC) merupakan salah satu dari 10 penyebab kematian teratas di seluruh dunia. Lebih dari 95% penderita penyakit paru-paru dengan penyebab tuberkulosis telah dilaporkan dari negara berkembang, terutama dari Asia, Afrika, Timur Tengah dan Amerika Latin (Amiri et al., 2018). Banyak faktor risiko seperti riwayat keluarga dari kontak dekat dengan pasien TBC, status sosial, usia, kemiskinan, jenis kelamin laki-laki, infeksi HIV, merokok, asma dan tunawisma memiliki peran penting dalam risiko pengembangan TBC (Amiri et al., 2018).

Spesies jamur *Candida* merupakan jamur penyebab kandidiasis pada manusia yang terjadi di seluruh dunia dan menyerang segala usia, baik laki-laki maupun Wanita (Anita et al., 2017). Kandidiasis oral merupakan manifestasi klinis awal dan dialami oleh pasien TBC. Kandidiasis oral dapat meningkatkan morbiditas pada pasien koinfeksi TBC. Hal tersebut disebabkan timbulnya keluhan yang signifikan, antara lain ketidaknyamanan dalam rongga mulut, rasa nyeri, tidak dapat menegap makanan, bahkan kesulitan menelan yang menyebabkan berat badan pasien terganggu akibat tidak cukup asupan makanan dan kualitas hidup pasien semakin menurun (Mariana et al., 2017).

Gejala umum infeksi jamur pada paru sama dengan infeksi mikroba lainnya, antara lain batuk-batuk, batuk darah, banyak dahak, sesak, demam, nyeri dada dan bisa juga tanpa gejala. Pada penderita TBC paru dengan defek anatomi paru disertai pemberian obat anti tuberkulosa dalam waktu lama akan menekan flora normal sehingga pertumbuhan jamur oportunistik tidak terhambat. Infeksi jamur paru sering menyertai penyakit lain dan tidak ada gejala yang khas sehingga infeksi jamur sering tidak terdiagnosa dan keberadaan jamur dalam paru pun

tidak diketahui, untuk itu pemeriksaan laboratorium sangat penting dengan mengidentifikasi adanya jamur pada sampel (Geni et al., 2016).

Perlunya skrining paru pasien tuberculosis untuk koinfeksi *Candida*, terutama dalam kasus pasien dengan respons yang tidak adekuat terhadap terapi antituberkular. Tes sensitivitas antijamur sangat diupayakan dalam kasus spesies *Candida non-Albicans*. Berdasarkan hal tersebut maka penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi gen *Candida spp.* pada swab tenggorok penderita TBC.

METODE

Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah analitik dengan desain *cross-sectional*.

Tempat dan Waktu

Pengambilan sampel dilakukan di Wilayah Kerja Puskesmas Kalumata sedangkan untuk identifikasi dengan menggunakan PCR dilaksanakan di Lab. NECHRI UNHAS. Peneliti telah mendapatkan persetujuan etik dengan nomor LB.02.04/2.3/181/2021 dari Poltekkes Kemenkes Ternate.

Populasi dan Sampel

Populasi penelitian adalah semua penderita penyakit tuberculosis di Puskesmas Kalumata, Kota Ternate. Sampel pada Penelitian ini berjumlah 30 orang.

Bahan dan Alat

1. Seperangkat alat PCR dan alat elektroforesis gel. Swab Tenggorok
2. Primer PCR *Candida albicans* 665bp (Forward CABF 59 : TTGAACATCTCCAGTTTCAAAGGT Reverse CADBR 125:AGCTAAATTCATAGCAGAAAGC)
3. Primer *C. parasilopsis* 1 837bp (Forward CPPIF41: TGACAATATGACAAAGGTTGGTA Reverse CPPIR122 : TGTCAAGATCAACGTACATTTAGT)
4. *C. parasilopsis* II 310bp (Forward CPPIIF41 : GGACAACATGACAAAAGTCGGCA Reverse CPPIIR69 : TTGTGGTGTAATTCTTGGGAG)
5. *C. Guillermondii* 205bp (Forward CGLF41 : CCCAAAATCACAAAGCTCAAGT Reverse CGLR61 : TACGACTTGAAGTTGCGAATTG)
6. *C. lusitaniae* 799bp (Forward CLTF39 : CATGTCGAAATGCAACCCCCCG Reverse CLTR119 : GCGTACACTTGTGGCCATCTTTA)
7. Malt ekstrak Agar

8. Alkohol, Larutan NaCl, natrium asetat, fenol, etanol 70%, bufer TE, aquades, bufer TBE, zat warna etidium bromide, trifosfat deoxynucleoside (dATP, dCTP, dTTP), Taq Polymerase, DNA templat 50ng sebanyak 5 mikro, bufer Tris-Borat EDTA, TBE, Bromphenol blue, Kappa master mix 2gfast, nuclease free water

Prosedur Kerja

Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan sesuai dengan petunjuk teknis yang terdapat pada kit ekstraksi DNA merk Geneaid.

Multipleks PCR

Primer yang digunakan yaitu *C. albicans* (665 bp), *C. parasilopsis 1* (887 bp), *C. parasilopsis 2* (230 bp), *C. guilliermondii* (205 bp), *C. lusitaniae* (799 bp). Campuran reaksi amplifikasi PCR diambil sebanyak 25 µl dengan enzim *Kappa* sebanyak 12,5 µl, MgCl. 0,5 µl, 10 µM primer forward 1 µl, 10 µM primer reverse 1 µl dan produk DNA 10 µl. Kemudian dilakukan amplifikasi pada alat PCR dengan suhu sebagai berikut:

- A) Cycle 1 sebanyak 1x Suhu 95°C selama 2 Menit (*Predenaturation*)
- B) Cycle 2 sebanyak x 25 Siklus
 1. Step 1 Suhu 95°C selama 30 detik (*Predenaturation process*)
 2. Step 2 Suhu 55°C selama 60 detik (*Annealing process*)
 3. Step 3 Suhu 72°C selama 1 menit (*Extension process*)
 4. Cycle 3 sebanyak 1x suhu 72°C selama 10 menit (*Final extension process*)
- C) Set 3 dan 4
 1. Cycle 1 sebanyak 1x Suhu 95°C selama 5 Menit (*Predenaturation process*)
 2. Cycle 2 sebanyak x 35 Siklus
 - Step 1 Suhu 95°C selama 30 detik (*Denaturation process*)
 - Step 2 Suhu 57°C selama 30 detik (*Annealing process*)
 - Step 3 Suhu 72°C selama 1 menit (*Extension process*)
 - Cycle 3 sebanyak 1x suhu 72°C selama 2 menit (*Final extension process*)

Elektroforesis Gel Agarosa

Untuk mengetahui hasil amplifikasi DNA dilakukan proses elektroforesis terhadap produk PCR pada gel agarosa 2% dan perangkat elektroforesis dijalankan dengan mengalirkan aliran listrik 100 Volt 400 mA selama 90 menit.

Pengolahan dan Analisis Data

Pengolahan dan analisis data hasil PCR di buatkan tabel dan di persentasekan masing-masing spesies jamur *Candida* spp.

HASIL

Hasil penelitian meliputi karakteristik responden dan hasil gen *Candida* spp. Hasil penelitian didapatkan sebanyak 30 sampel swab tenggorok pada penderita Tb yang diambil di wilayah Puskesmas Kalumata.

Tabel 1

Karakteristik responden berdasarkan jenis kelamin

Jenis Kelamin	Jumlah (N=30)	Persentase
Perempuan	13	43,3
Laki-laki	17	56,7

DOI: <https://doi.org/10.36990/hijp.v14i1.459.g487>

Responden secara keseluruhan sebanyak 30 orang. Jika diklasifikasikan sesuai jenis kelamin, responden perempuan sebanyak 13 orang (43,3%) dan laki-laki sebanyak 17 orang (56,7%).

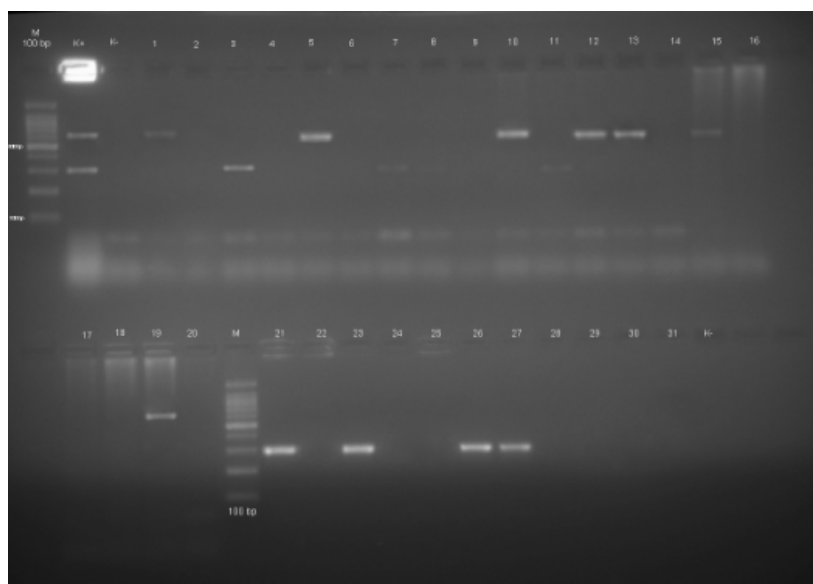
Tabel 2

Klasifikasi *Candida* berdasarkan hasil PCR

Spesies	Jumlah (N=30)	Persentase
<i>Candida albicans</i>	7	23,3
<i>Candida parasilopsis</i> 2	8	26,7
Negatif	15	50,0

DOI: <https://doi.org/10.36990/hijp.v14i1.459.g488>

Spesies yang ditemukan pada hasil multipleks PCR adalah *Candida albicans* pada 7 sampel (23,3%), *Candida parasilopsis* II pada 8 sampel (26,7%) dan negatif 15 sampel (50%).



Gambar 1

Amplifikasi pada PCR

Sampel no. 1, 5, 10, 12, 13, 15 dan 19, 665 bp adalah *C. albicans*; sampel

no. 3, 7, 8, 11, 21, 23, 26, dan 27, 310 bp adalah *C. parasilopsis II*

DOI: <https://doi.org/10.36990/hijp.v14i1.459.g489>

PEMBAHASAN

TBC merupakan penyakit menular, dan masih merupakan ancaman serius bagi manusia. Menurut Organisasi Kesehatan Dunia, 9,6 juta orang (kisaran: 9,1-10 juta) terdeteksi kasus baru tuberkulosis, dan 1,5 juta kematian (kisaran: 1,1-1,7 juta) terkait dengan penyakit ini pada tahun 2014 (Fontalvo et al., 2016)

Metode yang digunakan untuk menganalisis DNA dari sel *Candida* secara molekuler menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR) yaitu suatu metode enzimatis untuk amplifikasi DNA dengan cara *in vitro*. Pada proses PCR diperlukan beberapa komponen utama yaitu sampel, DNA cetakan, enzim DNA polimerase, oligonukleotida primer, (dNTP) deoksiribonukleotida trifosfat, dan komponen pendukung lain adalah senyawa bufer (Hermansyah et al., 2018).

Pada Tabel 1 menunjukkan bahwa laki-laki lebih banyak menderita TBC dibandingkan perempuan. Hal ini sejalan dengan penelitian Jaya & Mediarti (2017) dengan hasil penderita TBC lebih banyak diderita oleh laki-laki. Alasan pasti mengenai lebih seringnya laki-laki diduga TBC dibanding wanita belum diketahui, namun hal ini diduga terkait dengan hormon Estradiol pada wanita yang berfungsi meningkatkan respons imunitas selular melalui aktivasi makrofag oleh IFN-gamma yang menyebabkan wanita memiliki ketahanan lebih dalam melawan tuberkulosis dibandingkan laki-laki.

Hasil identifikasi dengan menggunakan metode multipleks PCR, dimana menggunakan 5 pasang primer yaitu *Candida albicans* (665 bp), *Candida parasilopsis I* (837 bp), *Candida parasilopsis II* (310 bp), *Candida guilliermondii* (205 bp) dan *Candida lusitanae* (799 bp) didapatkan identifikasi terbanyak yaitu *Candida parasilopsis II* (Tabel 2 & Gambar 1). Hasil yang berbeda dari penelitian Bhutia & Adhikari (2015) di Rumah Sakit Pusat Rujukan di Sikkim, India. Bhutia & Adhikari melakukan pemeriksaan pada 200 sampel

sputum dari pasien terduga TBC dengan pemeriksaan dilakukan dengan pemeriksaan mikroskopis langsung dengan KOH, pewarnaan gram dan kultur, dan didapatkan bahwa jamur yang paling banyak ditemukan dari pemeriksaan sputum adalah *Candida* sp. dan *Aspergillus* sp. Perbedaan penelitian ini dengan Bhutia & Adhikari (2015) yaitu kami melakukan identifikasi hingga pada tahap genotipenya sementara penelitian lain hanya pada tahap fenotipenya saja.

Dalam penelitian ini, dari 30 sampel swab tenggorok hanya terdapat 15 sampel yang positif dengan menggunakan 5 pasang primer ini sehingga kemungkinan hasil yang negatif bukan berarti betul negatif karena masih ada 9 jenis *Candida* spp. yang tidak terdeteksi dengan menggunakan primer ini (Tabel 2).

KESIMPULAN DAN SARAN

Ditemukan spesies *Candida albicans* pada 7 sampel, *Candida parasilopsis* II pada 8 sampel. Saran untuk peneliti selanjutnya menggunakan primer yang berbeda dan jumlah sampel yang lebih banyak.

Kekurangan Penelitian

Primer yang digunakan hanya 5 primer sehingga masih ada 9 jenis *Candida* spp. yang tidak terdeteksi dengan menggunakan primer ini.

Mengakui

Ucapan terimakasih kami ucapkan kepada Poltekkes Kemenkes Ternate, Lab. NECHRI UNHAS, responden, Puskesmas Kalumata, atas bantuannya sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Amiri, M.R.J., Siami, R. & Khaledi, A. (2018). Tuberculosis Status and Coinfection of Pulmonary Fungal Infections in Patients Referred to Reference Laboratory of Health Centers Ghaemshahr City during 2007-2017. *Ethiopian journal of health sciences*, 28(6), 683–690. <https://doi.org/10.4314/ejhs.v28i6.2>
- Anita, A., Maidin, A., & Massi, N. (2017). Multiplex PCR untuk mendeteksi *Candida* Spp. *Jurnal Medika: Media Ilmiah Analisis Kesehatan*, 2(1). <https://garuda.kemdikbud.go.id/documents/detail/2372569>
- Bhutia, T., & Adhikari, L. (2015). Pulmonary mycoses among the clinically suspected cases of pulmonary tuberculosis. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 1. <https://doi.org/10.5455/2320-6012.ijrms20150147>
- Fontalvo, D. M., Jiménez Borré, G., Gómez Camargo, D., Chalavé Jiménez, N., Bellido Rodríguez, J., Cuadrado Cano, B., & Navarro Gómez, S. (2016). Authors Response: Tuberculosis and pulmonary candidiasis co-infection present in a previously healthy patient. *Colombia Medica*, 177–177. <https://doi.org/10.25100/cm.v47i3.2619>
- Duarsa, W. D. P. D., & Dwija, I. B. N. P. (2020). Prevalensi *Candida Albicans* Pada Sputum Pasien Tb Dan Tb-Hiv Di Instalasi Mikrobiologi Klinik Rumah Sakit

- Umum Pusat Sanglah Denpasar. *E-Jurnal Medika Udayana*. 9(3), 22–27. <https://garuda.kemdikbud.go.id/documents/detail/1692992>
- Geni, L., Zuraida & Violita, V. (2016). Hitung Jumlah Koloni Jamur dan Identifikasi Jamur pada Sputum Penderita Tuberkulosis Paru dari Rumah Sakit X dan Y di Jakarta. *Artikel Ilmu Kesehatan*, 8(1), 37-45.
- Hermansyah, H., Sutami, N., & Miksusanti, M. (2018). Amplifikasi pcr domain d1/d2 28s rdna menggunakan primer its1 dan its4 sampel dna dari candida tropicalis yang diisolasi dengan metode pendinginan. *Indonesian Journal of Pure and Applied Chemistry*, 1(1), 1. <https://doi.org/10.26418/indonesian.v1i1.26037>
- Jaya, H., & Mediarti, D. (2017). Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Tuberkulosis Paru Relaps pada Pasien di Rumah Sakit Khusus Paru Provinsi Sumatera Selatan Tahun 2015-2016. *JPP (Jurnal Kesehatan Poltekkes Palembang)*, 12(1), 1-12. <https://garuda.kemdikbud.go.id/documents/detail/1046536>
- Mariana, N., Maemun, S., & Rusli, A. (2017). Profil pasien kandidiasis oral dengan koinfeksi tuberkulosis-hiv di rumah sakit penyakit infeksi (RSPI) Prof. Dr. Sulianti Saroso. *The Indonesian Journal of Infectious Diseases*, 3(1), 8. <https://doi.org/10.32667/ijid.v3i1.27>

Catatan kaki

Editor Akademis Mohammad Rizki Fadhil Pratama (Universitas Muhammadiyah Palangkaraya, Indonesia)

Pernyataan Konflik Kepentingan Para penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan.

Kontribusi Penulis Tidak dideklarasikan.

Berbagi Data Tidak ada setdata yang dibagikan.

Catatan Penerbit Poltekkes Kemenkes Kendari menyatakan tetap netral sehubungan dengan klaim dari perspektif atau hasil pemikiran yang diterbitkan dan dari afiliasi institusional manapun.

Author notes

aanyulianingsih@rocketmail.com