

**IDENTIFIKASI *Mycobacterium Nontuberculosis* DARI
SPESIMEN SPUTUM DENGAN HASIL BTA POSITIF**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat guna memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran (S. Ked)



Oleh:

**Rafika Novianti
04011381419166**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2018**

HALAMAN PENGESAHAN

**IDENTIFIKASI *Mycobacterium Nontuberculosis* DARI SPESIMEN
SPUTUM DENGAN HASIL BTA POSITIF**

Oleh:
Rafika Novianti
04011381419166

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat guna memperoleh gelar Sarjana Kedokteran

Palembang, 10 Januari 2018

Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

Pembimbing I
dr. Ella Amalia, M.Kes
NIP. 198410142010122007



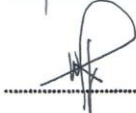
Pembimbing II
Prof. Dr. dr. Yuwono, M.Biomed
NIP. 1971101011998021001



Penguji I
dr. Phev Liana, Sp.PK
NIP. 198108032006042001



Penguji II
drs. Kusumo Hariyadi, Apt. Ms.
NIP. 195306131986031002



Ketua Program Studi
Pendidikan Dokter



dr. Susilawati, M.Kes.
NIP. 19780227 201012 2001



Mengetahui,
Wakil Dekan I

Dr. dr. Radiyah Umi Partan, SpPD-KR, M.Kes.
NIP. 19720717 200801 2007

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Rafika Novianti
NIM : 04011381419166
Fakultas/Program Studi : Kedokteran/ Pendidikan
Dokter Umum

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain.

Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Palembang, 18 Januari 2018
Penulis,

Rafika Novianti
NIM. 04011381419166

ABSTRAK

IDENTIFIKASI *Mycobacterium nontuberculosis* DARI SPESIMEN SPUTUM DENGAN HASIL BTA POSITIF

(Rafika Novianti, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, 48 Halaman)

Latar Belakang: Penyakit infeksi merupakan salah satu permasalahan utama kesehatan di dunia, bahkan di Indonesia. Salah satu penyebabnya yaitu infeksi *Mycobacterium*. Infeksi akibat *Mycobacterium nontuberculosis* sering terdiagnosis sebagai TB sehingga terjadi peningkatan kasus TB MDR. Kesalahan dalam mendiagnosis diakibatkan oleh metode pemeriksaan yang sensitifitasnya rendah seperti pewarnaan Ziehl-neelsen. Tujuan dari penelitian ini adalah mengidentifikasi *Mycobacterium nontuberculosis* dari spesimen sputum dengan hasil BTA positif.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif observasional dengan rancangan penelitian laboratorium untuk mengidentifikasi *Mycobacterium nontuberculosis*. Dalam penelitian ini, sebanyak 20 sampel BTA positif diisolasi dari pasien suspek TB paru yang diperiksa di Laboratorium Mikrobiologi Klinik RSUP dr. Mohammad Hoesin Palembang dengan menggunakan teknik multiplex PCR. Keberadaan *Mycobacterium nontuberculosis* dikonfirmasi dengan pemeriksaan gen hsp65.

Hasil: Hasil dari penelitian ini adalah 26% dari sampel teridentifikasi sebagai *Mycobacterium nontuberculosis* dan 74% merupakan *Mycobacterium tuberculosis*.

Kesimpulan: Pada penelitian ini telah ditemukan 26% spesies *Mycobacterium nontuberculosis* dari spesimen sputum dengan hasil BTA positif.

Kata kunci: *Mycobacterium nontuberculosis*, penyakit infeksi, gen hsp65

ABSTRACT

IDENTIFICATION OF *Mycobacterium nontuberculosis* IN SPUTUM SPECIMEN WITH POSITIVE SMEAR RESULT

(Rafika Novianti, Medical Faculty of Sriwijaya University, 48 Pages)

Background: Infectious disease is one of the major health problems in the world, even in Indonesia. One of the causes is *Mycobacterium* infection. Infection from *Mycobacterium nontuberculosis* is often diagnosed as TB resulting in an increase in MDR TB cases. Errors in diagnosis are caused by a low sensitivity checking method such as Ziehl-neelsen staining. The purpose of this study was to identify *Mycobacterium nontuberculosis* from sputum specimens with positive smear results.

Methods: This research is an observational descriptive study with a laboratory design study to identify *Mycobacterium nontuberculosis*. In this study, 20 samples of positive smear result collected from pulmonary tuberculosis suspected patients examined in Microbiology Clinical Laboratory of dr. Mohammad Hoesin Palembang by using multiplex PCR technique. The presence of *Mycobacterium nontuberculosis* was confirmed by examination of the hsp65 gene.

Results: The results of this study were 26% of the samples identified as *Mycobacterium nontuberculosis* and 74% were *Mycobacterium tuberculosis*.

Conclusion: In this study 26% of *Mycobacterium nontuberculosis* species have been found from sputum specimens with positive smear results.

Keywords: *Mycobacterium nontuberculosis*, infectious disease, hsp65 gene

LEMBAR PERSEMBAHAN



“Maka sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan. Sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan.”

(Q.S Al-Insyirah: 5-6)

“Allah tidak membebani seseorang itu melainkan sesuai dengan kesanggupannya.”

(Q.S Al-Baqarah: 286)

“Difficult roads often leads to beautiful destination”

Alhamdulillahillobbilalamin.

Sembah sujud serta syukurku kepada Allah SWT

Berkat berkah dan kasih sayang-Nya

Aku dapat menyelesaikan skripsi ini

Dengan ini saya persembahkan skripsi ini untuk Ayah, Ibu, dan kakak-adikku yang telah memberikan dukungan moril dan materil selama ini, serta para sahabat-sahabat yang ada saat suka maupun duka.

“Never forget the people who take time out of their day to check up on you.”

Great things never came from comfort zones

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah subhanahu wa ta'ala yang telah melimpahkan kasih dan sayang-Nya kepada kita, sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi dengan tepat waktu, dengan judul “Identifikasi *Mycobacterium nontuberculosis* dari Spesimen Sputum dengan Hasil BTA Positif”.

Penulis menyadari bahwa dalam penelitian maupun penyusunan skripsi ini tentu tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh sebab itu pada kesempatan ini, dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ayah dan Ibu yang selalu memotivasi, doa dan dukungan kepada penulis secara moril maupun materil hingga skripsi ini dapat selesai.
2. Kak fia dan Fauzan, juga anggota keluarga dan kerabat yang senantiasa memberikan doa dan dukungan semangat kepada penulis.
3. Dekan FK UNSRI atas izin dan kesempatan untuk melakukan penelitian ini, dan staf lainnya yang telah banyak membantu selama proses penelitian dan penyusunan skripsi.
4. dr. Ella Amalia, M.Kes selaku pembimbing pertama yang selalu senantiasa membimbing dengan sabar dan ikhlas yang banyak berperan dalam keberhasilan skripsi ini, Prof. Dr. dr. Yuwono, M.Biomed selaku pembimbing ke dua atas bimbingan dan ilmu yang telah diberikan, merupakan suatu kehormatan tersendiri dapat dibimbing langsung oleh beliau.
5. Pihak laboratorium mikrobiologi klinik RSMH dan pihak laboratorium biomolekuler FK UNSRI terutama mbak Venny Patricia yang telah banyak membantu selama proses penelitian.
6. Sahabat-sahabatku, saat SMP (Ade, Dacu, Mila), Yobo (Regi, Amel, Villia, Monik) dan Prof Bidadari (Tatak, Ciko, Lira, Ahda) terimakasih terimakasih untuk canda tawa, motivasi, bantuan, do'a, dan tempat berbagi suka-duka selama ini. *The most special one*, Ahmad Reiman untuk segalanya.

7. Teman seperjuangan skripsi rizky madang, dan teman seperbimbingan lainnya yang selalu setia dalam suka duka selama penelitian dan penulisan skripsi.
8. Teman-teman Gamma 2014, terima kasih untuk kenangan, canda, tawa, cerita, suka, dan duka kita lewati selama 3 tahun bersama. Kalian telah banyak memberikan pelajaran dan mewarnai hari-hariku, Kalian luar biasa kesuksesan menanti kita.
9. Semua pihak yang telah memberikan bantuan baik langsung maupun tidak langsung yang namanya tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis sangat bersyukur dan berterima kasih atas segala kebaikan, bantuan, dukungan dan motivasi yang telah diberikan oleh semua pihak yang telah membantu penyelesaian penelitian dan penulisan skripsi ini. Semoga Allah SWT selalu menyertakan kebaikan dan ridho-Nya kepada semua pihak yang telah membantu. Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari sempurna, untuk itu penulis mengharapkan segala saran dan kritik membangun untuk perbaikan di masa datang. Harapan penulis, semoga skripsi ini dapat bermanfaat untuk kemajuan ilmu pengetahuan.

Palembang, 18 Januari 2018

Penulis

Rafika Novianti

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul.....	i
Lembar Pengesahan.....	ii
Lembar Pernyataan.....	iii
Abstrak.....	iv
Abstract.....	v
Lembar Persembahan.....	vi
Kata Pengantar.....	vii
Daftar Isi.....	viii
Daftar Tabel.....	x
Daftar Gambar.....	xi
Daftar Lampiran.....	xii
Daftar Singkatan.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Landasan Teori	5
2.1.1 Penyakit Infeksi	5
2.1.2 Mycobacterium.....	6
2.1.2.1 Klasifikasi	6
2.1.2.2 Mycobacterium Nontuberculosis.....	6
2.1.2.3 Manifestasi Klinis	7
2.1.3. Diagnosis Laboratorium	8
2.1.3.1 Imunodiagnosis.....	8
2.1.3.2 Mikroskopik.....	8
2.1.3.3 Kultur	9
2.1.3.4 PCR	10

2.2 Kerangka Teori	12
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Jenis Penelitian	13
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	13
3.3 Populasi dan Sampel	13
3.3.1 Populasi Penelitian	13
3.3.2 Sampel Penelitian	13
3.3.3 Kriteria Inklusi	13
3.4 Variabel Penelitian	14
3.5 Definisi Operasional	14
3.6 Cara Kerja	14
3.7 Cara Pengolahan dan Analisis Data	20
3.8 Kerangka Operasional	21
BAB IV HASIL PENELITIAN	
4.1 Hasil Amplifikasi Gen Hsp65	22
4.2 Distribusi Gen Hsp65	23
BAB V PEMBAHASAN	
5.1 Pembahasan	24
5.2 Keterbatasan Penelitian.....	26
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1 Kesimpulan	27
6.2 Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	31
BIODATA	44

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Urutan Basa, Panjang Primer, dan Produk PCR dari Primer.....	19
2. Distribusi Gen Hsp65 pada Sampel Penelitian.....	28
3. Hasil Penelitian Gen Hsp65 Pada Isolat <i>Mycobacterium nontuberculosis</i> di Negara Lain.....	30

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Hasil Visualisasi Gen Hsp65.....	27

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Profil Genotip Isolat <i>Mycobacterium nontuberculosis</i>	30
2. Hasil Visualisasi.....	31
3. Dokumentasi Penelitian.....	32
4. Biodata dan Riwayat Hidup.....	34

DAFTAR SINGKATAN

BTA	:Bakteri Tahan Asam
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Nucleic Acid</i>
EDTA	: <i>Ethylene Diamine Tetraacetic Acid</i>
HIV	: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HSP65	: <i>Heat Shock Protein 65</i>
KDa	:Kilodalton
MDR	: <i>Multidrug Resistant</i>
MNT	: <i>Mycobacterium nontuberculosis</i>
OAT	:Obat Anti Tuberculosis
PBS	: <i>Phospate Buffer Saline</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PPOK	:Penyakit Paru Obstuktif Kronik
RGM	: <i>Rapid Growing Mycobacteria</i>
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>
TB	:Tuberkulosis

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu permasalahan utama kesehatan di dunia, bahkan di Indonesia. Profil data kesehatan Indonesia tahun 2014 melaporkan bahwa penyakit infeksi termasuk dalam sepuluh besar penyakit rawat jalan maupun rawat inap di rumah sakit pada tahun 2014, dalam beberapa tahun terakhir angka kejadian penyakit infeksi semakin meningkat (Kementrian Kesehatan, 2015).

Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri *Mycobacterium*. Menurut sejarah, penyakit infeksi *Mycobacterium* pada manusia banyak disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. *Mycobacterium tuberculosis* merupakan bakteri intraselular fakultatif penyebab tuberkulosis (TB). Jumlah penderita 1,7 milyar orang di seluruh dunia dan terdapat penambahan 3 juta kasus baru setiap tahunnya. Prevalensi TB di Indonesia tahun 2013 sebesar 297 per 100.000 penduduk. Kasus baru setiap tahun mencapai 460.000 kasus. Total kasus hingga 2013 mencapai sekitar 800.000-900.000 kasus (Chan & Iseman, 2013).

Belakangan ini, spesies lain dari *Mycobacterium* telah ditemukan, dan di berbagai belahan dunia dapat menyebabkan penyakit yang lebih berat dari TB. Organisme ini disebut *Nontuberculous Mycobacteria* (NTM)/ *Mycobacterium nontuberculosis* (MNT). Sama seperti TB, infeksi MNT dapat menyerang seluruh tubuh. Namun infeksi paru, limfe, kulit dan jaringan lunak merupakan infeksi yang paling sering terjadi. Faktor host dan karakteristik organisme mempengaruhi kerentanan dan manifestasi infeksi (Chan & Iseman, 2013).

Di Indonesia, data mengenai *Mycobacterium nontuberculosis* ini masih kurang memadai. Namun, untuk Yogyakarta, terdapat 28 kasus infeksi *Mycobacterium nontuberculosis* dalam 4 tahun terakhir yang ditemukan di beberapa rumah sakit di wilayah Yogyakarta yang diteliti di Laboratorium Tuberkulosis Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Untuk negara dengan lokasi yang berada di sekitar Indonesia, seperti Singapura dan Thailand, spesies yang paling banyak ditemukan adalah *M.avium complex* dan *M.kansasii*, lalu diikuti

dengan *M.fortuitum* dan *M.chelonae* dari golongan *rapidly growing Mycobacterium*.

Pada sebuah penelitian di Shandong, China, tanpa identifikasi spesies, tercatat sekitar 30.7% infeksi *Mycobacterium nontuberculosis* terdiagnosis sebagai *multi drug resistant tuberculosis* (MDR-TB) hal ini karena resistensi natural *Mycobacterium nontuberculosis* terhadap obat antituberkulosis. Di berbagai daerah di Indonesia kultur dan identifikasi spesies *Mycobacterium* bukanlah suatu kebiasaan bagi suspek tuberkulosis maupun infeksi *Mycobacterium nontuberculosis*. Hal ini menyebabkan seseorang dengan suspek tuberkulosis sering tidak sembuh ketika telah diobati dengan obat anti tuberkulosis (OAT) karena sesungguhnya pasien tersebut terinfeksi *Mycobacterium nontuberculosis* yang bermanifestasi klinis mirip TB (Jing *et al.*, 2012).

Faktor yang menghambat diagnosis infeksi *Mycobacterium* adalah lamanya waktu menunggu hasil kultur dan uji identifikasi penyebab infeksi. Menumbuhkan kuman penyebab infeksi berkisar 6-8 minggu. Pemeriksaan identifikasi membutuhkan waktu 3 hari sampai 1 minggu. Total waktu yang diperlukan untuk pemeriksaan kultur yaitu 7-9 minggu. Faktor kedua yaitu spesifisitas metode diagnosis pewarnaan basil tahan asam (BTA) sangat rendah sehingga walaupun didapatkan hasil BTA positif, tetap saja tidak bisa membedakan antar spesies *Mycobacterium*. Pewarnaan BTA merupakan metode diagnosis konvensional yang paling sering digunakan dipuskesmas karena murah dan cepat, hal ini menyebabkan spesimen yang mendapatkan hasil BTA positif dianggap pula positif TB, padahal jika hasil BTA positif belum tentu bakteri yang terdapat dispesimen merupakan *Mycobacterium tuberculosis*. Oleh karena itu dibutuhkan metode yang dapat mengidentifikasi lebih cepat dan akurat (Young *et al.*, 2008)

Belakangan ini, beberapa metode molekuler telah digunakan untuk mengidentifikasi jenis-jenis *Mycobacterium*. Salah satunya yaitu *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang dapat mendeteksi banyak gen berbeda sekaligus secara cepat dan tepat (Bensi, Panunto dan Ramos, 2013).

Banyak penelitian tentang diagnosis MNT telah dilakukan, salah satunya pada suatu penelitian di Iran pada tahun 2012, telah digunakan metode PCR dengan

mengamplifikasi gen *Hsp65* untuk mengidentifikasi MNT yang diisolasi dari berbagai spesimen seperti sputum, *synovial fluid*, urin dan biopsi jaringan. Spesimen juga telah dilakukan pemeriksaan ziehl neelsen dan telah didapatkan hasil BTA positif. Dari hasil penelitian empat puluh delapan isolat hasil kultur dari media LJ, termasuk 15 *M. tuberculosis*, 1 *M. bovis*, dan 32 MNT ditemukan 11 spesies diantara isolat MNT dan yang paling banyak ditemukan adalah *M.kansasii*, *M.gordonae III*, *M.marinum*, *M.chelonae*, *M.scofluaceum* dan *M.gastri* (Saifi *et al.*, 2012).

Pada kesempatan kali ini, penelitian akan dilakukan terhadap sputum dengan hasil BTA positif dan tidak akan dilakukan metode kultur terlebih dahulu.

1.2. Rumusan Masalah

Dari uraian latar belakang di atas, dapat dirumuskan beberapa masalah yaitu:

- 1.2.1. Berapa banyak *Mycobacterium nontuberculosis* yang teridentifikasi pada sputum dengan hasil BTA positif?

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk:

- 1.3.1. Mengidentifikasi *Mycobacterium* dari spesimen sputum dengan hasil BTA positif
- 1.3.2. Mengidentifikasi gen *Hsp65* penyandi *Mycobacterium nontuberculosis* menggunakan metode PCR dari spesimen sputum dengan hasil BTA positif

1.4. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1.4.1. Hasil penelitian dapat dijadikan data mengenai *Mycobacterium nontuberculosis* pada pasien suspek TB paru RSUP Dr. Mohammad Hoesin
- 1.4.2. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi langkah awal untuk penelitian lebih lanjut sebagai upaya untuk penegakkan diagnosis infeksi *Mycobacterium* yang tepat

DAFTAR PUSTAKA

- Aris, M., Sukenda, Harris, E., Sukandi, M. F. dan Yuhama, M. (2013). *Identifikasi molekular bakteri patogen dan desain primer PCR*. *Budidaya Perairan*, 1(3),43–50.
- Atlas, R. M. (1997). *Principles of Microbiology 2nd edition*. Wm C Brown. *United States of America*.
- Bensi, E. P. A., Panunto, P. C., dan Ramos, M. de C. (2013). *Incidence of tuberculous and non-tuberculous mycobacteria, differentiated by multiplex PCR, in clinical specimens of a large general hospital*. *Clinics*, 68(2),179–84.
- Chan, E.D., Iseman, M.D. (2013). *Underlying host risk factors for nontuberculous mycobacterial lung disease*. *Seminar in Respiratory and Critical Care Medicine*, 34,110-23.
- Daniell, H. (2012). *NIH Public Access*, 76(October 2009), 211–220.
- Jawets, Melnick dan Adelberg. (2005). *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Selemba Media.
- Jing, H., Wang, H., Wang, Y., Deng, Y., Li, X., Liu, Z. dan Ma, X. (2012). *Prevalence of nontuberculous mycobacteria infection, China, 2004-2009*. *Emerging Infectious Diseases*, 18(3), 527–528.
- Johnson, M. M. dan Odell, J. A. (2014). *Nontuberculous mycobacterial pulmonary infections*. *Journal of Thoracic Disease*, 6(3),210–220.
- Katoch, V. M. (2004). *Infections due to non-tuberculous mycobacteria (NTM)*. *Indian Journal of Medical Research*, 120(4), 290–304.
- Kementerian Kesehatan RI. (2016). *Profil Kesehatan Indonesia 2015*.
- Kim, H. J., Mun, H. S., Kim, H., Oh, E. J., Ha, Y., Bai, G. H. dan Kim, B. J. (2006). *Differentiation of mycobacterial species by hsp65 duplex PCR followed by duplex-PCR-based restriction analysis and direct sequencing*. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(11), 3855–3862.
- Kim, H., Kim, S. H., Shim, T. S., Kim, M. N., Bai, G. H., Park, Y. G. dan Kim, B. J. (2005). *Differentiation of Mycobacterium species by analysis of the heat-shock protein 65 gene (hsp65)*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(4), 1649–1656.
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S. dan Pfaller, M. A. (2009). *Medical Microbiology, 6th edition*. Elsevier. Canada.
- Nour-Neamatollahie, A., Ebrahimzadeh, Nayereh., Siadat, Seyed Davar., Vaziri, Farzam., Eslami, Mona., Akhavan Sepahi, Abbas., Khanipour, Sharareh.,

- heat Masoumi, Morteza., Sakhaee, Fatemeh., Ghazanfari Jajin, Morteza., Bahrmand, Ahmadreza., Fateh, Abolfazl. (2017). Distribution of non-tuberculosis mycobacteria strains from suspected tuberculosis patients by shock protein 65 PCR–RFLP. *Saudi Journal of Biological Sciences*. King Saud University, 24(6), 1380–1386.
- Park, H., Kim, C., Chung, B., Chang, C. L., Soon, K. P. dan Song, S. (2000). *Detection and identification of mycobacteria by amplification of the internal transcribed spacer regions with genus- and species-specific PCR primers. Journal of Clinical Microbiology*, 38(11), 4080–4085.
- Priyadarshini, P., Tiwari, K., Das, A., Kumar, D., Mishra, M. N., Desikan, P. dan Nath, G.. (2017). *Evaluation of highly conserved hsp 65-specific nested PCR primers for diagnosing Mycobacterium tuberculosis. The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 21(2), 214–217.
- Restiawati, N. M., dan Burhan, E. (2011). *Diagnosis dan Penatalaksanaan Tuberculosis (MOTT). Jurnal Respirologi Indonesia*, 31(3), 156–164.
- Ringuet, H., Akoua-Koffi, C., Honore, S., Varnerot, A., Vincent, V., Berche, P., Gaillard, J.L. dan Pierre-Audigier, C. (1999) ‘*hsp65 Sequencing for Identification of Rapidly Growing Mycobacteria hsp65 Sequencing for Identification of Rapidly Growing Mycobacteria*’, *Journal of clinical microbiology*, 37(3), 852–857.
- Saifi, M., Jabbarzadeh, E., Bahrmand, A. R., Karimi, A., Pourazar, S., Fateh, A. dan Vahidi, E. (2013). *HSP65-PRA identification of non-tuberculosis mycobacteria from 4892 samples suspicious for mycobacterial infections. Clinical Microbiology and Infection*, 19(8), 723–728.
- Santos, L. A., Silva, D. R., Lapa, M. M. L. dan Charifker, S. H. (2013). *Rapid detection and differentiation of mycobacterial species using a multiplex PCR system. Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 46(4), 447–452.
- Saviola, B. dan Bishai, W. (2006). *The Genus Mycobacterium-Medical. The Prokaryotes*, 3, 919–933.
- Schluger, N. W. M.D. (2007). *Tuberculosis and Non-tuberculous Mycobacterial Infections in Older Adults. Clinical Chest Medicine*, 28(4): 773–vi.
- Senna, S. G., Battilana, J., Costa, J.C., Silva, M. G., Duarte, R.S., Fonseca, L. S., Suffys, P.N. dan Bogo, M. R. (2008) “*Sequencing of hsp65 gene for identification of Mycobacterium species isolated from environmental and clinical sources in Rio de Janeiro, Brazil,*” *Journal of Clinical Microbiology*, 46(11), 3822–3825.
- Steingrube, V. a *et al.* (1995). *PCR amplification and restriction endonuclease*

analysis of a 65-kilodalton heat shock protein gene sequence for taxonomic separation of rapidly growing mycobacteria. Journal of clinical microbiology, 33(1), 149–53.

Telenti, A. *et al.* (1993). *Rapid Identification of Mycobacteria to the Species Level by Polymerase Chain Reaction and Restriction Enzyme Analysis. Journal of clinical microbiology 31(2), 175–178.*

Tortora, G. J., Funke, B. R., dan Case, C. L. (2015). *Microbiology: An introduction.* Pearson.

Wu, T. L., Chia, J. H., Kuo, A. J., Su, L. H., Wu, T. S. dan Lai, H. C. (2008). *Rapid identification of mycobacteria from smear-positive sputum samples by nested PCR-restriction fragment length polymorphism analysis. Journal of Clinical Microbiology, 46(11), 3591–3594.*

Young, D.B., Perkins, M.D., Duncan, K. CE Barry. (2008). *Confronting the scientific obstacles to global control of tuberculosis. The Journal of Clinical Investigation, 118, 1255-65.*