

Analisis Molekuler Resistensi terhadap Pasien dengan Multidrug Resistance Tuberculosis (MDR TB)

Aliya Rifani

Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

Cynthia Irene Zhu

Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

M. Revo Artmando Lindani

Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

Alamat: Jalur dua Univeristas Lampung, Jalan Prof. Dr Jl. Prof. Dr. Ir. Sumantri Brojonegoro No.1, Kota Bandar Lampung, Lampung 35141

Korespondensi penulis: aliyarifani66@gmail.com

Abstract. *Mycobacterium tuberculosis* is a bacterium that causes tuberculosis disease, which in the healing process requires a long time because this bacterium has a resting phase or what is called a dormant phase. This is one of the factors that cause patients who are undergoing tuberculosis treatment to experience saturation and stop treatment before the specified time. Resistance to antituberculosis drugs is a result of negligence in treatment so that bacteria become resistant to several types of antituberculosis drugs called multidrug resistance tuberculosis (MDR TB). This systematic review aims to examine the molecular structure of *Mycobacterium tuberculosis* bacteria and its correlation with the mechanism of resistance to antituberculosis drugs, especially Isoniazid and Rifampicin..

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, Multidrug Resistance TB (MDR TB), Molecular Structure, Isoniazid, Rifampicin.

Abstrak. *Mycobacterium tuberculosis* merupakan bakteri penyebab penyakit tuberkulosis yang dalam proses penyembuhannya memerlukan waktu yang lama karena bakteri ini memiliki fase istirahat atau yang disebut dengan fase dorman. Hal ini menjadi salah satu faktor penyebab pasien yang sedang menjalani pengobatan tuberkulosis mengalami kejenuhan dan menghentikan pengobatan sebelum waktu yang telah ditentukan. Resistensi terhadap obat antituberkulosis (OAT) menjadi akibat dari kelalaian dalam pengobatan sehingga bakteri menjadi resisten terhadap beberapa jenis obat antituberkulosis yang disebut sebagai multidrug resistance tuberculosis (MDR TB). Telaah sistematis ini bertujuan untuk mengkaji struktur molekuler bakteri *Mycobacterium tuberculosis* serta korelasinya dengan mekanisme molekuler resistensi obat antituberkulosis, khususnya Isoniazid dan Rifampisin.

Kata kunci: *Mycobacterium tuberculosis*, Multidrug Resistance TB (MDR TB), Struktur Molekuler, Isoniazid, Rifampisin.

LATAR BELAKANG

Tuberkulosis (TB) merupakan salah satu penyakit yang menyebabkan angka kematian tertinggi di seluruh dunia. Pada tahun 2022, World Health Organization (WHO) melaporkan bahwa jumlah orang yang baru didiagnosis menderita TB sebanyak 7,5 juta orang dan angka kematian akibat TB sekitar 1,30 juta orang. Indonesia merupakan 1 dari 30 negara dengan

beban TB tinggi atau kontributor utama TB sebesar 11%. Tanpa pengobatan, angka kematian akibat penyakit TB meningkat sekitar 50%. Dengan pengobatan yang saat ini telah direkomendasikan oleh WHO (obat antituberkulosis selama 4–6 bulan), angka kesembuhan TB dapat mencapai 85%.

Hal yang mendasari terjadinya prevalensi yang cukup tinggi adalah infeksi bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang dapat menular melalui menghirup tetesan kecil (droplet) dari orang yang terinfeksi. Bakteri TB dapat keluar dari tubuh penderita TBC ketika penderita batuk atau bersin yang kemudian dapat menyebar di udara lalu menyebabkan orang lain menjadi terpapar. Tuberkulosis terutama akan menginfeksi paru-paru, tetapi dapat menginfeksi bagian tubuh lainnya, misalnya kelenjar mukosa, yang disebut sebagai tuberkulosis ekstrapulmonal. Selain itu, penyebaran TB ini berkaitan dengan sanitasi dan demografis masyarakat.

Tidak semua orang yang tertular bakteri TB akan sakit. Ada dua kemungkinan, yaitu tuberkulosis dan infeksi tuberkulosis laten. Tanpa pengobatan tepat waktu, penyakit ini bisa berakibat fatal, khususnya pada pasien imunokompromais, terutama yang mengidap infeksi HIV/AIDS, memiliki risiko lebih tinggi terkena tuberkulosis daripada mereka yang memiliki sistem imunitas tubuh yang baik. Pengobatan penyakit ini memerlukan waktu yang cukup lama karena adanya fase istirahat atau fase dorman *Mycobacterium tuberculosis*. Jangka waktu yang panjang ini membuat sebagian besar pasien jenuh dan memutuskan untuk menghentikan pengobatan karena merasa bakteri tuberkulosis sudah tidak menginfeksi dirinya. Penghentian obat ini dapat meningkatkan resistensi terhadap beberapa obat anti tuberkulosis (OAT). Tuberkulosis yang resisten terhadap obat tersebut dapat menular dengan cara seperti pada tuberkulosis yang sensitif terhadap OAT, yaitu menular melalui droplet dan inhalasi. Orang yang menghirup bakteri tersebut dapat terinfeksi bakteri yang resisten terhadap OAT.

Obat anti-TB yang digunakan sebagai lini pertama pengobatan adalah Rifampisin (RIF), Isoniazid (INH), Ethambutol (EMB), Streptomisin, dan Pirazinamid (PZA). Namun, telah banyak laporan yang menunjukkan bahwa kasus TB yang menunjukkan resistensi terhadap obat lini pertama, khususnya Isoniazid dan Rifampisin, yang menyebabkan pasien mengalami multidrug resistance TB (MDR TB). Kasus ini membuat pasien yang resisten terhadap obat lini pertama ini harus beralih untuk mengonsumsi obat lini kedua yang memiliki efek samping yang lebih toksik, seperti capreomycin, sikloserin, dan etionamid.

Salah satu gen yang mengkode target OAT ialah gen *fbpA* yang terdapat dalam protein Ag85A. Bakteri *M. tuberculosis* memiliki dinding yang melimpah akan mycolid acid (asam

mikolat), arbinogalaktan, dan peptidoglikan. Dinding sel dari bakteri *M. tuberculosis* sangat penting untuk kelangsungan hidupnya apabila tidak melekat langsung ke sel inang. Protein Ag85A yang tersusun atas gen *fbpA* berperan sebagai penyusun dinding sel sehingga inaktivasi gen Ag85A mempengaruhi mycolate content dan mengubah kemampuan selubung sel *Mtb* sehingga menghasilkan peningkatan kerentanan terhadap obat-obatan lini pertama.

KAJIAN TEORITIS

Bagian ini menguraikan teori-teori relevan yang mendasari topik penelitian dan memberikan ulasan tentang beberapa penelitian sebelumnya yang relevan dan memberikan acuan serta landasan bagi penelitian ini dilakukan. Jika ada hipotesis, bisa dinyatakan tidak tersurat dan tidak harus dalam kalimat tanya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Menurut penelitian yang dilakukan di Tiongkok bagian timur pada tahun 2021, pengujian kerentanan obat untuk rifampisin, isoniazid, ofloxacin, dan kanamycin umumnya dilakukan menggunakan metode rasio berbasis bahasa Lowenstein-Jensen (LJ). Artinya, dari Januari 2013 hingga Desember 2014, didaftarkan pasien dengan tuberkulosis yang resistan terhadap beberapa obat di lima kota di Provinsi Jiangsu, Tiongkok. Kemudian mengurutkan gen yang terlibat dalam resistensi obat dan membandingkan kesamaan gen dengan resistensi sinyal. Hubungan antara mutasi dan hasil pengobatan dinyatakan sebagai rasio odds (OR) dan interval kepercayaan 95% (CI).

Tabel 1. Sekuens Primer DNA Gen Resistensi terhadap Obat Antituberkulosis

Table 1. DNA sequencing primers for anti-tuberculosis drug resistance genes

Gene	Primer	Sequence (5' → 3')	Product size (bp)
rpoB	rpoB-F	CGACCACTTCGGCAACCG	342bp
	rpoB-R	TCGATCGGGACATCCGG	
katG	katG-F	AATCGATGGGCTTCAAGAGC	550bp
	katG-R	CTCGTAGCCGTACAGGATCTCG	
inhA	inhA-F	TGCCCAGAAAGGATCCGTCATG	455bp
	inhA-R	ATGAGGAATGCGTCCGCGGA	
pncA	pncA-F	GCCGCCAACAGTTCATCC	760bp
	pncA-R	GATTGTGCTCACTACATCACC	
rpsA	rpsA-F	ATCTGTCCCTACGCCAAC	742bp
	rpsA-R	ACCGTCCACACGCCGAGA	
gyrA	gyrA-F	ATCGAGCAGGAGATGCAG	553bp
	gyrA-R	CGTCGTAGTTAGGATGAAA	
gyrB	gyrB-F	GTTTGAAGCCAAACCCACC	470bp
	gyrB-R	TGAACCGGAACAACAACGT	
rrs	rrs-F	GTCAACTCGGAGGAAGGTGG	516bp
	rrs-R	GTCCGAGTGTTCCTCAGG	
eis	eis-F	CACAGGGTCAGTCACAGAATC	98bp
	eis-R	GCAICGCGTGAICCTTTGCCAGAC	

Mutasi yang paling umum terjadi pada *rpoB* 531 (41/71; 62,1%) untuk RIF, *katG* 315 (47/71; 66,2%) dan C (−15) T pada *inhA* (8/71; 11,3%) untuk INH; *gyrA* 94 (9/71; 12,7%) untuk OFX;

rrs 1401 (4/71; 5,6%) dan -22 di eis (10/71; 14,1%) untuk KM (Meja 2). Proporsi mutasi terkait resistensi RIF, INH, PZA, OFX dan KM adalah 93,0% (66/71), 77,5% (55/71), 38,0% (27/71), 38,0% (27/71), dan 23,9% (17/71), masing-masing urutan DNA mengidentifikasi 17 mutasi pada gen rpoB dari 66 (93,0%) isolat, dengan yang paling umum terjadi pada kodon 531 (Ser→Leu) (41/71, 57,8%). Empat jenis mutasi diidentifikasi pada gen katG dari 50 (70,4%) isolat, dengan yang paling umum terjadi pada kodon 315 (47/71, 66,2%). Substitusi ganda pada katG dan inhA diamati pada 3 isolat. Di antara strain yang resisten terhadap PZA, 24 (88,9%) membawa mutasi pada pncA , dan 3 (11,1%) membawa mutasi pada rpsA . Di antara strain yang resisten terhadap OFX, 21 (77,8%) membawa mutasi pada gyrA , 7 (25,9%) membawa mutasi pada gyrB , dan 1 (3,7%) mengalami mutasi pada gyrA dan gyrB . Di antara strain yang resisten terhadap KM, 9 (52,9%) mengalami mutasi pada gen rrs , dan 14 (82,4%) mengalami mutasi pada gen eis (Liu et al, 2021).

Pembahasan

Mekanisme Resistensi *M. Tuberculosis*

Mycobacterium tuberculosis secara alami resisten terhadap banyak antibiotik dan kemoterapi seperti β -laktam, karena memiliki enzim hidrolitik dan enzim yang dapat memodifikasi obat seperti periplasma β laktamase dan amino-glikosida asetil transferase, serta kemampuan sistem penghabisan obat, selain memiliki dinding sel yang sangat hidrofobik dan bertindak sebagai penghalang yang mempersulit pengobatan. Mutasi dapat berupa penyisipan, penghapusan, atau substitusi nukleotida. Resistensi obat dalam pengobatan TBC sudah terjadi sejak obat anti TBC pertama kali dikenal. Setelah 4 sampai 6 minggu pengobatan, keluhan nyeri hilang, menyebabkan sebagian besar pasien menghentikan pengobatan, tetapi sebagian besar dari mereka mengalami kekambuhan penyakit sehingga memerlukan inisiasi pengobatan baru sehingga menghasilkan kondisi yang menguntungkan untuk seleksi mikobakteri yang resisten terhadap obat berkembang pada pasien ini resistensi didapat sekunder (resistensi obat didapat); yang kemudian dapat ditularkan ke individu lain, sehingga menimbulkan resistensi obat lini pertama. Monoterapi menginduksi pemilihan populasi basil yang resisten terhadap obat (acquired resistance) sehingga diperlukan terapi kombinasi yang tepat karena kemungkinan strain berkembang resistensi terhadap 2 obat atau lebih dalam waktu bersamaan sangat kecil.

Mekanisme Resistensi terhadap Isoniazid

Target kerja Isoniazid dalam tahap pertama adalah menyintesis dinding sel *Mycobacterium tuberculosis* yang tersusun atas asam mikolat. Isoniazid memerlukan produk gen structural katG untuk menyandikan enzim katalase peroksidase dari *M. tuberculosis* sehingga dapat mengaktivasi isoniazid. Resistensi terhadap isoniazid merupakan akibat dari adanya mutasi beberapa gen, yaitu katG, inhA (menyandi enzim enoyl-ACP CoA rektase), ahpC (penyandi aktif alkil hidroperoksidase reductase), kasA, ndh, dan oxyR (regulator stres oksidatif). Mutasi yang paling utama dalam mekanisme molekuler resistensi isoniazid adalah gen katG dan inhA. Pada gen katG, terjadi mutasi asam amino serin menjadi asam amino treonin pada kodon 315 (Ser315Thr). Selain itu, mutasi pada gen inhA yang terletak pada posisi -15C/T, adalah salah satu penyebab terjadinya resistensi silang dengan etionamid karena target obat yang dituju keduanya adalah sama.

Mekanisme Resistensi Rifampisin

Target kerja rifampisin adalah mengikat subunit beta enzim RNA polymerase yang akan menghambat proses elongasi pada transkripsi sehingga menyebabkan kematian basil dengan cara melawan bakteri yang tumbuh secara aktif dan bakteri yang sudah tidak lagi aktif.

RNA polimerase terdiri dari 4 subunit berbeda (α , β , β' dan σ) dan dikodekan oleh gen *groA*, *groB*, *rpoC*, dan *rpoD*. Gen *rpoB* merupakan penyebab terbesar terjadinya resistensi isolat terhadap obat rifampisin. Hal ini menyebabkan afinitas terhadap obat dan resistensi makin menurun. Sekitar 96% isolat *M. tuberculosis* resisten terhadap rifampisin. Mutasi terjadi pada *hot spot* wilayah inti 81 bp gen *rpoB* pada kodon 507-533 (wilayah penentu resistensi rifampisin atau RRDR). Mutasi missense pada kodon 513, 526, dan 531 menyebabkan resistensi tinggi terhadap rifampisin.

KESIMPULAN DAN SARAN

Mekanisme resistensi OAT akan melalui proses mutasi genomik kromosom secara acak dan spontan secara alami dengan reaktivasi berulang pada kasus kronis yang terjadi secara bertahap. Resistensi dapatan merupakan akibat dari terapi yang tidak adekuat sehingga bakteri menjadi mutan MDR TB

DAFTAR REFERENSI

- Adam, L. 2020. Pengetahuan Penderita Tuberkulosis Paru Terhadap Kepatuhan Minum Obat Anti Tuberkulosis. *Jambura Health and Sport Journal*. 2(1), pp. 12-18. ISSN: 2656-2863.
- Agus, R., Purnamasari, W. O. S., Parura, R. D., Silang, F., dan Massi, M. N., 2022. Cloning, Production And Responses Of The sMTL-13 Protein (13 kDa Lectin Secretion) Mycobacterium Tuberculosis Against Interleukin 6. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 23(12), pp. 6208-6212.
- Aristiana, C. D. & Wartono, M. 2018. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kejadian Multi Drug Resistant Tuberkulosis (MDR-TB). *JbBiomedKes*. 1(1), pp. 65- 75. DOI: 10.18051/JBiomedKes.2018.v1.65-74.
- Arumingtyas, E. L. 2019. Mutasi: Prinsip Dasar dan Konsekuensi. Universitas Brawijaya Press. ISBN: 978-602-432-826-9
- Budi I, Ardihila Y, Sari I, Septiawaty D, 2018. Analisis Faktor Resio Kejadian Penyakit Tuberkulosis bagi Masyarakat Daerah Kumuh Kota Palembang. *Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia*:17(2):87-94
- Chitale, P., Lemenze, A. D., Fogarty, E. C., Shah, A., Grady, C., Odom-Mabey, A. R., Johnson, W. E., Yang, J. H., Eren, A. M., Brosch, R., Kumar, P., dan Alland, D., 2022. A Comprehensive Update To The Mycobacterium tuberculosis H37Rv Reference Genome. *Nature communications*, 13(1), p. 7068

- De Martino, M., Lodi, L., Galli, L., dan Chiappini, E., 2019. Immune response to *Mycobacterium tuberculosis*: a narrative review. *Frontiers in pediatrics*, 7, 350
- Delannoy, C., Huang, C., Coddeville, B., Chen, J. Y., Mouajjah, D., Groux- Degroote, S., Harduin-Lepers, A., Khoo, K., Guerardel, Y., dan Ellass- Rochard, E., 2020. *Mycobacterium bovis* BCG Infection Alters The Macrophage N-Glycome. *Molecular omics*, 16(4), pp. 345-354
- Dookie et al., 2018. Evolution of Drug Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: a review on the molecular determinants of resistance and implications for personalized care. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*: 73 (5): 1138-1151
- Fitzgerald, D. M., dan Rosenberg, S. M., 2019. What Is Mutation? A Chapter In The Series: How Microbes "Jeopardize" The Modern Synthesis. *PLoS genetics*, 15(4), p. e1007995
- Gavrilov, M., Yang, J.Y., Zou, R.S., Ma, W., Lee, C.Y., Mohapatra, S., Kang, J., Liao, T.W., Myong, S. and Ha, T., 2022. Engineered Helicase Replaces Thermocycler in DNA Amplification While Retaining Desired PCR Characteristics. *Nature Communications*, 13(1), p.6312
- Global tuberculosis report 2022. Geneva: World Health Organization; 2022 (<https://iris.who.int/handle/10665/363752>).
- Gordon, S. V., dan Parish, T., 2018. Microbe Profile: *Mycobacterium tuberculosis*: Humanity's Deadly Microbial Foe. *Microbiology*, 164(4), pp. 437-439
- Gupta, M., Wu, H., Arora, S., Gupta, A., Chaudhary, G. and Hua, Q., 2021. Gene Mutation Classification Through Text Evidence Facilitating Cancer Tumour Detection. *Journal of Healthcare Engineering*, 2021, pp.1-16
- Hu, T., Chitnis, N., Monos, D., dan Dinh, A., 2021. Next-Generation Sequencing Technologies: An Overview. *Human Immunology*, 82(11), pp. 801-811
- HUTABARAT, HOTNIDA DINAULI. GAMBARAN HASIL PEMERIKSAAN *Mycobacterium Tuberculosis* MENGGUNAKAN GENEXPERT PADA SUSPECT TB DI RUMAH SAKIT UMUM PIRNGADI MEDAN. 2019.
- Jang, J. G., dan Chung, J. H., 2020. Diagnosis and Treatment of Multidrug- Resistant Tuberculosis. *Yeungnam University Journal of Medicine*, 37(4), pp. 277-285
- Kadri, K., 2019. Polymerase Chain Reaction (PCR): Principle and Applications. *Synthetic Biology-New Interdisciplinary Science*. IntechOpen
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2022. Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2021. Jakarta.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Petunjuk Teknis Manajemen Terpadu Pengendalian Tuberkulosis Resistan Obat: Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan, 2018
- Kolbe, K., Veleti, S. K., Reiling, N., dan Lindhorst, T. K., 2019. Lectins of *Mycobacterium tuberculosis*-Rarely Studied Proteins. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 15(1), pp. 1-15
- Lange, C., Aarnoutse, R. E., Alffenaar, J.W. C., Bothamley, G., Brinkmann, F., Costa, J., Chesov, D. et al., 2019 Management Of Patients With Multidrug- Resistant Tuberculosis The International Journal Of Tuberculosis and Lung Disease, 23(6), pp. 645-662.
- Liu Q, Yang D, Qiu B, Martinez L, Ji Y, Song H, et al. (2021) Drug Resistance Gene mutations and Treatment Outcomes in MDR-TB: A Prospective Study in Eastern China. *PLoS Negl Trop Dis* 15(1): e0009068. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009068>
- Liu, Q., Yang, D., Qiu, B., Martinez, L., Ji, Y., Song, H., dan Wang, J., 2021. Drug Resistance Gene Mutations and Treatment Outcomes In MDR-TB: A Prospective Study In Eastern China. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 15(1), p. e0009068
- Methods used by WHO to estimate the global burden of TB disease. Geneva: World Health Organization; 2021 (<https://www.who.int/publications/m/item/methods-used-by-who>)

- to-estimate-the-global-burden-of-tb-disease).
- Novianti., Simarmata, O, S., Lolong, D,B., PEMANFAATAN TES CEPAT MOLEKULER (TCM) GENEXPERT SEBAGAI ALAT DIAGNOSTIK TB PARU DI RSUD WANGAYA KOTA DENPASAR, Jurnal Ekologi Kesehatan, 2020; (Desember 2019):Vol. 18 No. 3, 135-148.
- Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Infodatin Tuberkulosis, 2018, didapat dari <http://www.pusdatin.kemkes.go.id/pdf.php?id=18101500001>
- Umar, 2022, Mycobacterium tuberculosis: Kajian Mekanisme Resistensi Intrinsik dan Resistensi Genetik Terhadap Obat Anti Tuberkulosis, Jawa Barat, PT Pusat Literasi Dunia Kepuh, Lemahsugih, Majalengka, Jawa Barat, Indonesia.
- World Health Organization, Global Tuberculosis Report 2023, 2023.
- Zhai, W., Wu, F., Zhang, Y., Fu, Y., dan Liu, Z., 2019. The Immune Escape Mechanisms Of Mycobacterium tuberculosis. International Journal of Molecular Sciences, 20(2), p. 340