



Analisis Mutasi Gen *rpoB* sebagai Penanda Resistensi Rifampisin pada Penderita Tuberkulosis Paru di BBKPM Makassar

Indas Wari Rahman^{1*}, Nurfitri Arfani¹, Mega Wati Faisal¹, Andi Maya Kesrianti¹, Risky Nurul Fadlila RN¹, Andi Meinar Dwi Rantisari¹

¹Universitas Megarezky, Indonesia

*Korespondensi: indas.rahman@gmail.com

Info Artikel

Diterima 23
Januari 2022

Disetujui 08 Mei
2022

Dipublikasikan 09
Mei 2022

Keywords:
Tuberkulosis;
Mycobacterium
Tuberculosis; Gen
rpoB; Rifampisin;
Sekuensing

© 2022 The
Author(s): This is
an open-access
article distributed
under the terms of
the Creative
Commons
Attribution
ShareAlike (CC BY-
SA 4.0)



Abstrak

Tuberkulosis paru adalah salah satu penyakit infeksi menular yang menyerang saluran pernapasan bawah yang disebabkan oleh bakteri patogen yaitu Mycobacterium tuberculosis. Kesulitan dalam penanganan tuberkulosis salah satunya disebabkan oleh terjadinya resistensi antibiotik rifampisin sebagai antibiotik lini pertama. Resistensi rifampisin dikendalikan oleh gen rpoB (RNA Polymerase β -Subunit) pada Mycobacterium tuberculosis yang akan terekspresi ketika terjadi mutasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mutasi gen rpoB pada penderita tuberkulosis paru di BBKPM Makassar. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan desain cross sectional menggunakan 20 sampel sputum positif tuberkulosis yang telah melakukan terapi antibiotik lini pertama selama dua bulan. Deteksi mutasi gen rpoB dengan metode PCR dan dilanjutkan dengan sekuensing. Hasil dari penelitian yaitu didapatkan mutasi gen rpoB pada 17 sampel, yang terjadi pada posisi 1304 bp, 1322 bp, 1333 bp, 1348 bp, 1349 bp dan 1471 bp. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu terjadinya mutasi gen rpoB resisten terhadap antibiotik rifampisin

Abstract

Pulmonary tuberculosis is an infectious disease that attacks the lower respiratory tract caused by the pathogenic bacterium that is Mycobacterium tuberculosis. One of the difficulties in treating tuberculosis is caused by the occurrence of antibiotic resistance of the rifampin as a first-line antibiotic. Resistance of rifampicin is controlled by the rpoB gene (RNA Polymerase β -Subunit) in Mycobacterium tuberculosis which will be expressed when a mutation occurs. This study aims to determine the rpoB gene mutation in pulmonary tuberculosis patients at BBKPM Makassar. This study is a descriptive study with a cross-sectional design using 20 samples of sputum positive for tuberculosis that had been treated with first-line antibiotics. Detection of rpoB gene mutation by PCR method and followed by sequencing. The results of the study showed that there were mutations in the rpoB gene in 17 samples, which occurred at positions 1304 bp, 1322 bp, 1333 bp, 1348 bp, 1349 bp and 1471 bp. The conclusion of this study is that there is a mutation in the rpoB gene that is resistant to rifampin antibiotic.

1. Pendahuluan

Penyakit menular seperti Tuberkulosis merupakan salah satu penyakit yang penularannya sangat cepat terjadi. Tuberkulosis menunjukkan angka kenaikan dengan jumlah kasus baru dan kematian yang sering terjadi dalam beberapa tahun terakhir (Marlinae dkk, 2019). Berdasarkan data (WHO,2020) tuberkulosis termasuk dalam sepuluh penyakit penyebab utama kematian secara global. Kejadian ini dapat dilihat dari data tahun 2019 yang diperkirakan ada sekitar 10 juta kasus tuberkulosis diseluruh dunia, yaitu laki- laki sebanyak 56% (berusia \geq 15 tahun), perempuan sebanyak 32%, dan anak-anak 12%.

Berdasarkan data Kemenkes RI (2018), mengenai jumlah kasus baru tuberkulosis di Indonesia pada tahun 2017 sebanyak 420.994 kasus, dengan jumlah kasus baru pada penderita yang berjenis kelamin laki-laki lebih besar 1,4 kali dibanding pada penderita berjenis kelamin perempuan. Jumlah kasus pada laki-laki sebesar 245.298 sedangkan jumlah kasus pada perempuan sebesar 175.696. Adanya perbedaan kasus yang lebih besar pada laki-laki daripada perempuan dapat dipengaruhi oleh salah satu faktor resiko tuberkulosis yaitu kebiasaan merokok, serta kurang patuhnya dalam konsumsi obat.

Data yang dikeluarkan oleh Dinas Kesehatan Kota Makassar Sub Bidang bagian Pencegahan dan Penanggulangan Penyakit (P2), bahwa penderita tuberkulosis paru sebanyak 10.079 orang. Jumlah tersebut berdasarkan dari data dan pelaporan yang dikeluarkan oleh Puskesmas di kota Makassar dengan rincian 7.915 orang, kemudian laporan data dari beberapa Rumah Sakit di Makassar sejumlah 2.164 orang (Handayani, 2019).

Tuberkulosis (TB) disebabkan oleh salah satu bakteri yaitu *Mycobacterium tuberculosis*. Bakteri ini biasanya menyerang bagian paru-paru, namun bakteri ini dapat juga menyerang bagian tubuh lainnya seperti ginjal, tulang belakang dan otak. Tidak semua orang yang terinfeksi bakteri TB akan sakit, karena akan ada dua kondisi terkait infeksi TB, yaitu infeksi TB laten dan TB aktif. Jika infeksi TB laten tidak ditangani dengan baik maka akan menjadi TB aktif, dan berakibat fatal (CDC, 2016).

Pada pengobatan standar untuk terapi tuberkulosis yang sensitif terhadap obat terdiri dari empat jenis antibiotik selama dua bulan, yaitu Isoniazid (H), Rifampisin (R), Pirazinamid (Z) dan Ethambutol (E). Dari keempat antibiotik standar TB yang digunakan dalam pengobatan, hanya Rifampisin yang menghambat RNA polimerase bakteri dan merupakan antimikroba spektrum luas yang digunakan untuk infeksi non-mikobakteri. Namun antibiotik lini pertama ini telah banyak terjadi resistensi antibiotik hingga menyebabkan peningkatan kasus Tuberkulosis yang Resistensi Antibiotik (TB-RO) di seluruh dunia. TB yang resisten terhadap obat disebabkan oleh bakteri TB yang kebal terhadap setidaknya satu obat anti-TB lini pertama. *Multidrug-resistant TB (MDR-TB) yaitu strain baru yang resisten terhadap lebih dari satu obat anti-TB, setidaknya Isoniazid dan Rifampisin* (Wipperman et al., 2017; CDC, 2016)

Adanya mutasi random yang terjadi pada kromosom bakteri disebabkan oleh kejadian resistensi antibiotik. Resistensi terhadap antibiotik rifampisin pada *Mycobacterium tuberculosis* disebabkan oleh mutasi yang terjadi pada gen *rpoB* (*RNA Polymerase β -Subunit*). Menurut penelitian dari Latifah (2018) tentang Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* Resistensi Rifampisin Berdasarkan Analisis

Mutasi Pada Sekuen Gen *rpoB*, kasus resistensi terhadap antibiotik rifampisin merupakan kasus resistensi yang sering terjadi. Resistensi rifampisin muncul akibat adanya mutasi pada gen *rpoB* terutama pada daerah yang berada di bagian tengah gen dan disebut dengan *Rifampisin Resistance Determining Region* (RRDR).

Gen *rpoB* merupakan gen yang membentuk struktur *sub unit-β RNA polymerase* yang menjadi situs target dari antibiotik rifampisin (Latifah, 2018). Struktur rifampisin yang tidak dapat berikatan dengan *subunit-β RNA polymerase* terjadi akibat transkripsi RNA terhambat sehingga menyebabkan sintesis protein juga terhambat. Penghambatan inilah yang menjadi penyebab rifampisin tidak bekerja dengan baik (resisten). Pada isolat *Mycobacterium tuberculosis* (>95%) yang telah diketahui resisten terhadap rifampisin, mengalami mutasi pada gen *rpoB*. Sehingga dalam pemeriksaan dengan metode molekuler, region yang terjadi mutasi ini (gen *rpoB*) merupakan target yang ideal untuk mendeteksi resistensi terhadap rifampisin (Linggani, 2018).

BBKPM Makassar merupakan salah satu balai besar di Sulawesi Selatan yang menjadi tempat pemeriksaan pasien infeksi tuberkulosis, sehingga pengambilan sampel dilakukan di balai tersebut. Deteksi mutasi gen akan dilakukan dengan metode PCR dan dilanjutkan dengan sekuensing. Penelitian ini bertujuan mendeteksi adanya gen *rpoB* dan mengetahui mutasi yang terjadi pada urutan basa nukleotida gen *rpoB*.

2. Metode Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif (*cross sectional study*) untuk deteksi mutasi gen *rpoB* (*RNA Polymerase β-Subunit*) pada sputum penderita tuberkulosis paru dengan teknik total sampling, yaitu melibatkan semua objek yang memenuhi kriteria inklusi yaitu pasien tuberkulosis yang telah melakukan terapi dan resisten antibiotik lini pertama. Penelitian ini telah dilakukan pada bulan September-Nopember 2021. Pengambilan sampel dilakukan di BBKPM Makassar dengan jumlah sampel sebanyak 20 sputum yang memenuhi syarat. Proses pengerjaan sampel dengan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dilakukan Laboratorium *Hasanuddin University Medis Research Center* (HUM-RC) Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin

2.1 Instrumen Penelitian

Pada penelitian ini digunakan alat berupa mesin microcentrifuge, centrifuge, mesin GeneAmp PCR System 9700, vortex, pot sampel, microwave, spin down, mesin elektroforesis Bio-rad PowerPac Basic dan perangkat Bio-rad *GeIDoc*. Bahan yang digunakan yaitu sputum TB-RO, Kit ekstraksi DNA, *nuclease free water* (ddH₂O), *Tris Borate EDTA* (TBE), *Ethidium Bromida* (etBr), Agarose (Molecular Biology Grade) merk Vivantis, enzim kappa 2G, marker 100 bp DNA Ladder. Sepasang primer yang digunakan yaitu primer *Forward* : 5' - GGGAGCGGATGACCACCA- 3', dan primer *Reverse* : 5' - GCGGTACGGCGTTTCGATGAAC- 3'.

2.2 Prosedur Penelitian

a. Ekstraksi DNA (*Spin Coloumn*)

Tahap pertama yaitu tahapan lisis, dimasukkan sputum sebanyak 200 μ l kedalam tube steril, lalu tambahkan 20 μ l proteinase K, kemudian diinkubasi pada 60°C selama 5 menit, lalu tambahkan 200 μ l buffer GSB, divortex kemudian diinkubasi lagi pada suhu 60°C selama 2 menit, lalu ditambahkan etanol absolut (96%) kemudian kembali divortex selama 10 detik. Pindahkan semua campuran ke *spin coloumn* dan sentrifus dengan kecepatan 14.000 rpm selama 1 menit. Tabung ependorf dibawah *spin coloumn* dibuang lalu diganti dengan yang baru. Selanjutnya ditambahkan *buffer wash* pertama dengan jumlah 400 μ l, lalu di sentrifus (14.000 rpm selama 30 detik). Hasil sentrifus berupa supernatan pada tube dibuang dan ditambahkan *buffer wash* 2 sebanyak 600 μ l, dan kembali disentrifus (14.000 rpm 30 detik), kemudian pindahkan supernatan ke mikrotube yang baru lalu sentrifus kembali (3 menit 14.000 rpm), lalu dibuang mikrotube dan supernatan, *spin coloumn* dipindahkan ke mikrotube yang baru, selanjutnya tambahkan larutan *buffer elution* sebanyak 100 μ l, diinkubasi selama 3 menit disuhu ruang, kemudian sentrifus dengan kecepatan 14.000 rpm dalam waktu 30 detik, kemudian buang *spin coloumn*. Setelah selesai, hasil ekstraksi di gunakan sebagai template PCR.

b. Amplifikasi DNA

Langkah pertama yaitu pengenceran sepasang primer pekat dengan ddH₂O, kemudian dilakukan pengenceran 100 μ M dengan cara 1 : 9 yaitu, masing-masing *primer* dipipet sebanyak 10 μ l lalu dimasukkan kedalam tube, ditambahkan dengan ddH₂O sebanyak 90 μ l. Langkah kedua yaitu mix PCR. Mix PCR dibuat sebanyak 1.080 μ l dengan cara masing-masing reagen di kali 24 sampel (sengaja dibuat lebih untuk mengantisipasi ada sampel yang rusak) kemudian disatukan dalam tube. Enzim kappa di pipet sebanyak 480 μ l (20 μ l enzim dikali 24 sampel), kemudian masing-masing primer dipipet 24 μ l (1 μ l primer R dan F dikali 24 sampel), dan dipipet ddH₂O sebanyak 552 μ l (23 μ l ddH₂O dikali 24 sampel) kemudian divortex. Selanjutnya dipipet masing-masing 45 μ l mix PCR kedalam 24 mikrotube dan ditambahkan 5 μ l DNA hasil ekstraksi ke masing-masing mikrotube, sehingga masing-masing mikrotube berisi 50 μ l. setelah itu disentrifus menggunakan *microcentrifuge*. Langkah berikutnya proses PCR. Mesin PCR yaitu *GeneAmp PCR System 9700*. Proses amplifikasi berjalan selama 2 jam. Setelah selesai proses PCR, hasil amplifikasi dimasukkan kedalam freezer.

c. Elektroforesis

Sebelum dilakukan elektroforesis, dilakukan terlebih dahulu pembuatan gel agarosa, kemudian dimasukan ke bak elektroforesis selanjutnya dituangkan larutan TBE hingga menutupi seluruh permukaan gel, kemudian dipipet 5 μ l marker dan diletakkan dalam sumur 1, sedangkan pada sumur 2 sampai sumur 20 diisi dengan masing-masing hasil amplifikasi sebanyak 5 μ l, selanjutnya ditutup bak elektroforesis dan mengatur tegangan sebesar 100 volt, untuk arus litrik sebesar 400 ampere dan waktu selama 40 menit. Selanjutnya hasil elektroforesis di baca dengan alat visualisasi *Bio-rad GelDoc transilluminator*.

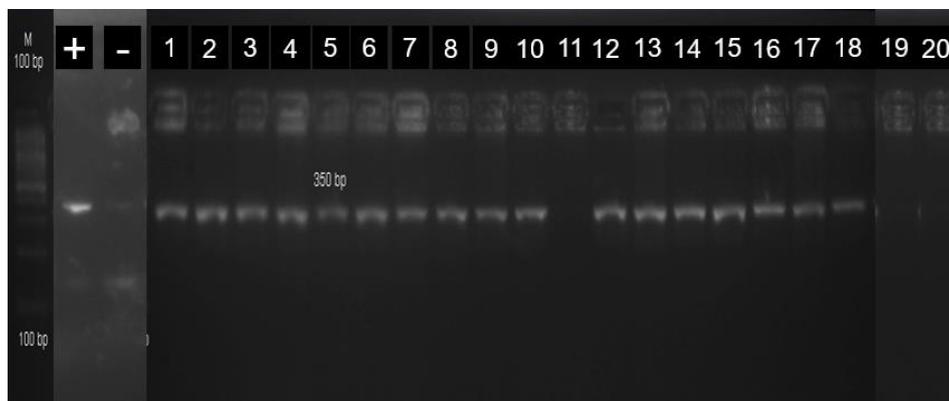
d. Analisis Mutasi

Hasil amplifikasi setelah dianalisa, kemudian disekuensing di *First Base Malaysia*. Data sekeuns selanjutnya dianalisis menggunakan *calculate identity/similarity* dalam perangkat lunak Bioedit 7.2

e. Hasil sekuen yang diperoleh pada mutasi gen *rpoB Mycobacterium tuberculosis* dianalisis untuk melihat perubahan pada susunan basa nitrogen

3. Hasil

Pada penelitian ini, hasil dari ekstraksi DNA dilanjutkan proses amplifikasi pada PCR menggunakan primer spesifik yaitu F : 5'-GGGAGCGGATGACCACCCA- 3', dan primer R : 5' -GCGGTACGGCGTTTCGATGAAC- 3'. Kemudian hasil elektroforesis divisualisasi dengan *GelDoc* yang digambarkan sebagai berikut (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil visualisasi elektroforesis, amplifikasi daerah gen *rpoB* sampel 1-10, 12-18 dengan Marker DNA Ladder 100 bp

Keterangan :

M : Marker/ penanda ukuran DNA 100 bp

+ : Kontrol positif

- : Kontrol negatif

1-20 : Kode Sampel

Tabel 1. Analisis mutasi gen *rpoB* dari hasil sekuensing

Kode Sampel	Hasil	Posisi (bp)	Mutasi
1	+	1349	C → T
2	+	1348	T → G
	+	1349	C → A
3	+	1333	C → T
4	+	1349	C → T
5	+	1333	C → G
6	+	1349	C → T
7	+	1349	C → T
8	+	1349	C → T
9	+	1322	C → T
10	+	1304	A → T
12	+	1333	C → G

13	+	1349	C → T
14	+	1333	C → T
15	+	1349	C → T
16	+	1349	C → T
17	+	1471	A → T
18	+	1349	C → T

Keterangan :

1 – 18 : Kode Sampel

+

: Bermutasi

Posisi mutasi : 1349, 1348, 1333, 1322, 1304 dan 1471

Nukleotida : A = Adenin, G = Guanin, C = Sitosin, T = Timin

Hasil visualisasi menggunakan *GeIDoc* pada (Gambar 1), dapat dilihat bahwa diantara 20 sampel, hanya *well* yang berisikan sampel ke 11, 19 dan 20 tidak terdapat gen *rpoB* sedangkan selain dari ketiga *well* sampel tersebut terdapat gen *rpoB*, ditemukan satu fragmen pada tiap slot dari 17 sampel yang ada dan menunjukkan pita pada rentang 350 bp selain pada sampel 11, 19 dan 20.

Berdasarkan tabel 1, menjelaskan bahwa yang terjadi pada sampel 1, 2, 4, 6, 7, 8, 13, 15, 16 dan 18 terdapat perubahan pada posisi 1349 yakni pada sampel 1, 4, 6, 7, 8, 13, 15, 16 dan 18 bermutasi C → T sedangkan sampel 2, mengalami 2 kali perubahan yaitu pada posisi 1349 dengan mutasi C → A, dan pada posisi 1348 dengan mutasi T → G. Kemudian pada sampel 3, 5, 12 dan 14 terdapat perubahan pada posisi 1333 yakni pada sampel 3 dan 14 mutasi C → T sedangkan pada sampel 5 dan 12 mutasi C → G. Selanjutnya pada sampel 9 terjadi perubahan pada posisi 1322 yakni mutasi C → T, sampel 10 terjadi perubahan pada posisi 1304 yakni mutasi A → T dan sampel 17 terjadi perubahan pada posisi 1471 yakni mutasi A → T. Posisi nukleotida yang mutasi tersebut dapat dilihat berdasarkan hasil sekuensing pada gambar.2.

Gambar 2. Hasil Sekuensing

4. Pembahasan

Pada Penelitian ini menggunakan sampel sputum TB-RO yang diambil dari BBKPM Makassar sebanyak 20 sampel yang memenuhi kriteria inklusi dan dilakukan uji sampel di laboratorium HUM-RC dengan menggunakan metode PCR konvensional untuk mendeteksi pita DNA target yang terbentuk, kemudian dilanjutkan menggunakan metode sekuensing untuk dapat mengkonfirmasi apakah didapatkan mutasi pada gen target *rpoB* untuk mengkonfirmasi adanya resistensi terhadap rifampisin. Penelitian ini terbagi dalam tiga tahapan pengerjaan, yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi DNA yang dilanjutkan dengan elektroforesis dan sekuensing. Pada tahap ekstraksi DNA dengan menggunakan metode *spin column* ada beberapa fase yaitu isolasi, lisis sel (membran sel), presipitasi RNA dan protein, purifikasi DNA (pemurnian), presipitasi akhir DNA. Tujuan dari tahapan ekstraksi DNA pada penelitian ini adalah untuk memperoleh DNA murni *Mycobacterium tuberculosis* sehingga dapat dilanjutkan ke tahap selanjutnya.

Pada tahap PCR meliputi tiga fase yaitu, fase *denaturasi* (pemisahan ikatan hidrogen dari double heliks menjadi single strain), fase *annealing* (proses penempelan primer), dan fase *extention* (pemanjangan DNA target). Tujuan dari tahap PCR dalam penelitian ini adalah untuk mendapatkan DNA target dari primer yang digunakan. Hasil amplifikasi DNA kemudian dilanjutkan dengan proses elektroforesis, yang bertujuan untuk pembacaan hasil visualisasi amplifikasi DNA menggunakan bantuan sinar ultra violet, dan interpretasi hasil dari pita DNA yang terbentuk pada panjang basepair tertentu.

Hasil amplifikasi DNA dari hasil ekstraksi DNA TB-RO pada penelitian ini didapatkan 17 sampel (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18) positif terdapat gen *rpoB* yang memperlihatkan satu fragmen dengan panjang urutan nukleotida 350 bp. Hal ini menandakan bahwa gen *rpoB* dapat digunakan untuk mendeteksi mutasi pada *Mycobacterium tuberculosis* terhadap resistensi antibiotik rifampisin. Dari amplifikasi DNA yang ditemukan, maka 17 sampel tersebut kemudian dikirimkan ke *First Base Malaysia* untuk disekuensing. Selanjutnya dianalisis menggunakan program Bioedit versi 7.2, dengan hasil analisis menunjukkan perubahan nukleotida sehingga menyebabkan terjadi perubahan asam amino pada region gen *rpoB*. Berdasarkan hasil sekuensing (gambar 2), terdapat 17 sampel yang memperlihatkan adanya mutasi pada susunan asam nukleotida. Sampel TB-RO sebelumnya tidak diketahui resistensi syang spesifik terhadap antibiotik yang mana, dan akhirnya diketahui setelah dilakukannya pemeriksaan. Dari hasil penelitian, Sampel TB-RO diketahui terjadi mutasi pada gen *rpoB*. Hal ini menunjukkan bahwa terjadinya mutasi pada gen *rpoB* berhubungan dengan resistensi terhadap antibiotik rifampisin karena gen *rpoB* merupakan gen target dari antibiotik tersebut.

Rifampisin bersifat bakteriostatik terhadap *Mycobacterium tuberculosis* dengan mekanisme kerja yang menghambat sintesis protein bakteri pada proses transkripsi. Dari hasil pemeriksaan sekuensing yang telah dianalisa, dapat dikategorikan bahwa mutasi yang terjadi pada sampel TB-RO merupakan mutasi titik karena mutasi yang terjadi pada gen *rpoB* adalah perubahan kimiawi yang terjadi pada beberapa susunan basa nitrogen pada DNA *Mycobacterium tuberculosis*.

Mutasi titik yang terjadi pada sampel TB-RO termasuk jenis mutasi missense atau mutasi salah arti. Mutasi ini merupakan perubahan suatu kode genetik pada posisi satu dan dua kodon yang dapat menyebabkan asam amino yang terikat pada rantai polipeptida berubah. Proses transisi dan transversi yang menyebabkan terjadinya mutasi ini. Pada sampel dengan perubahan basa nukleotida C → T disebabkan oleh peristiwa transisi, sedangkan pada sampel dengan perubahan basa nukleotida A → T, C → A, C → G dan T → G disebabkan oleh peristiwa transversi. Mutasi gen berdasarkan penyebabnya terbagi menjadi dua bagian yaitu penggantian basa nukleotida dan pergeseran kerangka nukleotida. Berdasarkan penggantian basa nukleotida, terbagi atas dua yaitu transisi dan transversi. Peristiwa transisi adalah peristiwa penggantian Purin → purin atau primidin → primidin (C → T atau A → G), sedangkan peristiwa transversi adalah peristiwa penggantian purin → primidin atau primidin → purin (A → C, A → T / G → C, G → T atau C → A, C → G / T → A, T → G) (Warmadewi, 2017) .

Hasil dari penelitian ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Amalia dkk (2015) mengenai mutasi gen *rpoB* Ser531leu terhadap resistensi rifampisin, yang menunjukkan adanya mutasi gen *rpoB* *Mycobacterium tuberculosis* berhubungan dengan resistensi terhadap antibiotik rifampisin. Penelitian yang dilakukan (Li et al., 2021) mengenai mutasi gen *rpoB* dan efek rifampisin pada *M. tuberculosis* menunjukkan bahwa dari 175 isolat *M. tuberculosis* yang digunakan, 34 diantaranya yang mengalami mutasi. Selain itu, beberapa mutasi juga menunjukkan interaksi dengan rifampisin sehingga dapat digunakan untuk pengujian antibiotik baru dalam pengobatan tuberculosis. Penyebab *M. tuberculosis* resistensi terhadap rifampisin dikarenakan mutasi gen *rpoB* menyandi

RNA-polymerase-subunit-β. Mutasi pada gen ini menyebabkan perubahan pada struktur dan kemampuan dari antibiotik.

Berdasarkan penelitian lainnya yang telah dilakukan oleh Susilawati dkk, (2019) mengenai mutasi gen *rpoB* pada strain MDR-TB, menunjukkan hasil bahwa terjadi mutasi pada kodon 526 yaitu mutasi *missense* dan terjadi perubahan nukleotida pada nukleotida kedua (A →C). Sementara penelitian yang dilakukan Nugraha (2011) mengenai mutasi gen *rpoB Mycobacterium tuberculosis* pada dahak dengan metode PCR-SSCP. Hasil penelitian menunjukkan sensitivitas dan spesifitas pada mutasi gen *rpoB* yang tinggi yaitu 80% dan 95,2%.

Kejadian resistensi rifampisin terhadap *Mycobacterium tuberculosis* pada penderita tuberkulosis yang telah terapi antibiotik ini dipengaruhi oleh ekspresi gen *rpoB* yang mutasi. Mutasi yang timbul pada beberapa jenis bakteri dengan efek resistensi antibiotik sangat dipengaruhi oleh penggunaan antibiotik yang tidak bijak.

5. Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa terjadi mutasi gen *rpoB* (85%) dari 20 sampel sputum penderita tuberkulosis paru yang telah mengkonsumsi antibiotik lini pertama di BBKPM Makassar.

6. Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini dapat berjalan dengan lancar berkat bantuan dan dukungan dari para dosen dan mahasiswa prodi D-IV Teknologi Laboratorium Medis, pendamping peneliti di laboratorium molekuler HUM-RC Universitas Hasanuddin dan BBKPM Makassar. Oleh karena itu, kami mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah terlibat dari mulai sampling, pengerjaan di laboratorium hingga terselesaikannya laporan hasil penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Amalia, E., Nindatama, M. R., Hayati, L., & Handayani, D. (2015). Identifikasi Mutasi Gen *rpoB* Ser531Leu *Mycobacterium tuberculosis* Yang Berhubungan Dengan Resistensi Rifampisin, 1, 30–34.
- Centers for Disease Control and Prevention. (2016). *Tuberculosis (TB), Basic TB Facts, Treatment and Drug-Resistant TB. Division of Tuberculosis Elimination, National Center for HIV, Viral Hepatitis, STD and TB Prevention*. Retrieved from <https://www.cdc.gov/tb/default.htm>
- Handayani. (2019). *Metode Deteksi Tuberculosis*. (Fungky, Ed.) (Pertama). Ponorogo: Uwais Inspirasi Indonesia. Retrieved from [https://books.google.co.id/books?id=Q4OGDwAAQBAJ&pg=PR1&lpg=PR1&dq=Handayani,+H.+\(2019\).+Metode+Deteksi+Tuberculosis.+Uwais+Inspirasi+Indonesia#v=onepage&q=Handayani%2C+H.+\(2019\).+Metode+Deteksi+Tuberculosis.+Uwais+Inspirasi+Indonesia&f=false](https://books.google.co.id/books?id=Q4OGDwAAQBAJ&pg=PR1&lpg=PR1&dq=Handayani,+H.+(2019).+Metode+Deteksi+Tuberculosis.+Uwais+Inspirasi+Indonesia#v=onepage&q=Handayani%2C+H.+(2019).+Metode+Deteksi+Tuberculosis.+Uwais+Inspirasi+Indonesia&f=false)
- Kemendes RI. (2018). *Tuberculosis (TB). Tuberculosis (Vol. 1)*. Jakarta Selatan. Retrieved from www.kemendes.go.id
- Latifah, L. A. (2018). *Deteksi Mycobacterium tuberculosis Resisten Rifampisin berdasarkan Analisis Mutasi Sekuen Gen rpoB*. Unpad. Universitas

- Padjadjaran. Retrieved from <http://eprints.ulm.ac.id/id/eprint/7541>
- Li, M. C., Lu, J., Lu, Y., Xiao, T. Y., Liu, H. C., Lin, S. Q., ... Wan, K. L. (2021). RpoB mutations and effects on rifampin resistance in mycobacterium tuberculosis. *Infection and Drug Resistance*, 14(August), 4119–4128. <https://doi.org/10.2147/IDR.S333433>
- Linggani, M. P. S. (2018). *Relationship Between Care Tb Cadre With Quality of Life Lung Tuberculosis Patient on Working Area of Puskesmas Segiri Samarinda*. Universitas Muhammadiyah Kalimantan Timur. Retrieved from http://media.unpad.ac.id/thesis/140410/2015/140410150009_c_7170.pdf
- Marlinae, L., & dkk. (2019). *Desain Kemandirian Pola Perilaku Kepatuhan Minum Obat pada Penderita TB Anak Berbasis Android*. (S. Theana, A. Lutfiani, & Marisa, Eds.). Yogyakarta: CV Mine. Retrieved from <http://eprints.ulm.ac.id/id/eprint/7541>
- Nugraha, J. (2011). Clinical Pathology and Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik. *Jurnal Indonesia*, 21(3), 261–265.
- Susilawati, S., Rasyid, S. A., & Sanatang. (2019). Identifikasi Mycobacterium tuberculosis dan Multidrug Resisten TB Pada Sampel Sputum Terhadap Pasien Suspek TB Menggunakan Metode GenExpert dan Multiplex PCR. *Jurnal MediLab Mandala Waluya Kendari*, 3(2), 97–106.
- Warmadewi, D. A. (2017). Buku Ajar Mutasi Genetik. In *Mutasi Genetik* (Vol. 15–16, pp. 1–53). Retrieved from https://simdos.unud.ac.id/uploads/file_pendidikan_1_dir/46040f013f61d5c656dc4998b3d08418.pdf
- Wipperman, M. F., Fitzgerald, D. W., Juste, M. A. J., Taur, Y., Namasivayam, S., Sher, A., ... Glickman, M. S. (2017). Antibiotic treatment for Tuberculosis induces a profound dysbiosis of the microbiome that persists long after therapy is completed. *Scientific Reports*, 7(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10346-6>
- World Health Organization. (2020). *Tuberculosis Report*. *Baltimore Health News* (Vol. XLIX).