

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Saat ini terdapat berbagai macam permasalahan kesehatan yang masih menjadi tantangan untuk diatasi bagi seluruh negara. Tuberkulosis (TB) masih menjadi masalah kesehatan global. Tuberkulosis adalah suatu penyakit menular yang disebabkan oleh kuman pathogen *Mycobacterium tuberculosis*. Kuman *M. Tuberculosis* ini dapat menular melalui udara (*airborne disease*), dari penderita tuberkulosis ke orang lain disekitarnya. Gejala yang ditimbulkan dari penyakit tuberkulosis yaitu batuk selama lebih dari 2 minggu tidak pernah reda bahkan semakin parah, dahak berdarah, berat badan menurun tanpa sebab yang jelas, demam meriang, dada terasa nyeri, sesak nafas, nafsu makan berkurang bahkan tidak ada, mudah lemas, berkeringat malam walaupun tanpa beraktifitas (Kadek Kumara Aida et al., 2022).

Setelah diagnosa TB ditegakkan, pasien akan mendapatkan pengobatan obat anti TB (OAT) selama beberapa bulan yang harus dikonsumsi secara rutin dan tidak boleh terputus. Obat yang diberikan yaitu isoniazid, rifampicin, ethambutol dan pyrazinamide. Diberikannya obat ini selain untuk mempercepat penyembuhan dilakukan juga untuk mencegah penyakit berkembang menjadi TB kebal obat atau *Multi Drugs Resistance (MDR-TB)*. Kasus MDR-TB ini terjadi ketika *M. tuberculosis* resisten dari Obat Anti Tuberkulosis (OAT) yang manjur yaitu isoniazid (INH) dan rifampisin (Rif) (Soedarsono et al., 2020).

MDR-TB merupakan masalah besar terhadap pencegahan dan pemberantasan TB di dunia maupun Indonesia. Dalam laporan WHO, MDR-TB di dunia sebesar 3,3% dari kasus baru, sedangkan estimasi pada kasus yang pernah diobati sebelumnya sebesar 20%. Pada tahun 2019, Indonesia termasuk negara dengan kasus MDR-TB terbanyak ke-4 setelah India, China, Federasi Rusia. Diperkirakan ada 23.000 kasus MDR-TB di Indonesia. Dari kasus TB yang tercatat ada sejumlah 442.000 kasus pada tahun 2017, diperkirakan kasus MDR -TB sekitar 8.600-15.000. Diperkirakan 2,4% kasusnya merupakan kasus baru MDR-TB dan

13% merupakan pasien TB yang telah diobati sebelumnya (Kementrian Kesehatan, 2019). Penyebaran MDR-TB semakin meningkat juga disebabkan lemahnya pengendalian TB, kurangnya sumber dana dan keterlambatan dalam menegakkan diagnosa pada kasus MDR-TB (Handayani et al., 2021).

Adanya kasus MDR-TB menjadi suatu permasalahan besar dalam upaya memberantas penyakit tuberkulosis (TB) di Indonesia. Kemampuan untuk mendeteksi penyakit TB secara akurat menjadi sangat penting untuk membantu mempercepat diagnosis dini pada pasien yang terkena tuberkulosis. Berbagai metode pemeriksaan dari konvensional hingga modern telah dilakukan. Dilakukan pemeriksaan mikroskopik, pemeriksaan kultur dan radiologik. Pemeriksaan mikroskopik cukup cepat dan ekonomis tetapi sensitivitas dan spesifisitasnya masih kurang, pemeriksaan kultur memerlukan waktu sekitar 3-12 minggu dan pemeriksaan radiologik terkadang sulit untuk membedakan antara penyakit TB dan penyakit lainnya sehingga diperlukan metode lain untuk menentukan diagnosis terhadap TB. Selain itu, metode diagnosis yang ada saat ini hanya mampu mendeteksi keberadaan bakteri penyebab TB saja, tidak dapat membedakan MDR-TB dan TB saja. Digunakanlah metode lain yaitu menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR) yang mengamplifikasi DNA bakteri juga berkontribusi dalam diagnosis TB. Deteksi bakteri TB dengan teknik PCR memiliki sensitivitas yang amat tinggi akan tetapi membutuhkan proses amplifikasi yang lama sehingga hasil yang dikeluarkan juga lama (Falahul Ilmi & Ari Khusuma, 2022).

Ada metode lain yang memiliki spesifisitas dan sensitivitas yang tinggi dalam mendiagnosa penyakit TB dan metode ini lebih akurat dibandingkan metode lain. Metode ini merupakan *Tes Cepat Molekuler (TCM) GeneXpert*. *TCM GeneXpert* ini dapat mendiagnosa TB yang resisten terhadap Rifampisin. Metode ini menargetkan hotspot region gen *rpoB* pada *M. tuberculosis* yang terintegrasi dan secara otomatis mengolah DNA penderita TB dalam cartridge sekali pakai. Metode ini memerlukan waktu pemeriksaan kurang dari 2 jam (S. M. D. Rahman et al., 2023). Metode GeneXpert ini dapat digunakan sebagai alat skrining TB, metode ini memiliki kekurangan yaitu tidak dapat digunakan sebagai pemeriksaan lanjutan (monitoring) pada penderita TB yang mendapat terapi (Kindewara et al.,

2022).

Diperlukan metode deteksi baru untuk mengatasi resistensi pada kasus MDR-TB. *Real-time PCR (qPCR)* menjadi salah satu metode yang digunakan untuk mendeteksi *M. tuberculosis* yang mengalami mutasi. qPCR menawarkan beberapa keuntungan proses tidak terlalu lama, lebih mudah, hasil pemeriksaan lebih efektif dibandingkan dengan metode konvensional. Pada metode qPCR dibutuhkan DNA probe yang dapat mendeteksi mutasi secara spesifik dengan menggunakan fluoresensi. (Pueteri et al., 2017a)

Fokus utama penelitian ini adalah pada gen multiplex yang terdiri dari gen *rpoB* dan *katG* karena menurut data WGS pasien menyebar di kota Jakarta, Bandung, Bogor, dan Papua menghasilkan gen yang bermutasi pada pasien MDR-TB adalah *rpoB* dan *katG*. Dipilihnya dua gen ini dikarenakan resisten terhadap rifampisin dan isoniazid yang disebabkan oleh gen *rpoB* dan *katG* yang bermutasi sehingga terjadi MDR-TB. Dengan ini dilakukanlah metode deteksi menggunakan qPCR multipleks yang dapat mengamplifikasi beberapa gen berbeda menggunakan berbagai primer yang spesifik dalam satu kali reaksi. Dalam kerjanya, primer ini akan menempel pada urutan DNA target pada gen yang diinginkan. (Maksum et al., 2018). Metode yang digunakan ini diharapkan dapat menghasilkan metode diagnosis cepat, tepat dan efektif dalam mengidentifikasi kasus resistensi obat pada pasien MDR-TB.

Sebelumnya telah dilakukan penelitian terkait gen singleplex, pada penelitian gen singleplex didapatkan hasil optimasi suhu annealing qPCR dari gen *rpoB* dan *katG* yaitu 58°C. Hasil qPCR ini menunjukkan keberhasilan amplifikasi dari kedua gen dengan benar. Hasil amplifikasi DNA penderita menunjukkan bahwa primer dan probe mengenali sekuens gen pada penderita TB dan MDR-TB. Hasil kurva penderita TB menunjukkan kurva diamplifikasi lebih awal sedangkan pasien MDR-TB kurva diamplifikasi lebih lambat (Novianti et al., 2023).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang maka dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

- a. Optimasi suhu pada metode deteksi gen multiplex menggunakan probe dalam deteksi mutasi gen katG dan rpoB pada bakteri MTB sampel pasien MDR-TB?
- b. Apakah metode multiplex terbukti berhasil mendeteksi mutasi gen katG dan rpoB pada sampel pasien MDR-TB dengan menggunakan probe?

1.3 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Ho: Optimasi probe khusus multiplex yang telah didesain tidak dapat mendeteksi mutasi gen katG dan gen rpoB pada bakteri MTB sampel pasien MDR-TB menggunakan qPCR.
- b. Ha: Optimasi probe khusus multiplex yang telah didesain berhasil mendeteksi mutasi gen katG dan gen rpoB pada bakteri MTB sampel pasien MDR-TB menggunakan qPCR.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengoptimasi metode diagnosis dalam mengidentifikasi *M. tuberculosis* yang resisten terhadap isoniazid dan rifampisin (MDR-TB) menggunakan Real-time PCR (q-PCR). Adapun tujuan khusus penelitian ini :

- a. Menguji keberhasilan desain probe multiplex melalui metode qPCR dalam mendeteksi gen multiplex bakteri *M. tuberculosis* pada sampel MDR-TB
- b. Memberikan informasi yang tepat mengenai optimasi deteksi multiplex dalam mendeteksi mutasi gen multiplex pada sampel pasien MDR-TB

1.5 Manfaat Penelitian

- a. Diharapkan hasil penelitian ini dapat membantu dalam mendiagnosis MDR-TB pada gen multiplex (rpoB dan katG) secara cepat, tepat dan efektif sehingga dapat menentukan pengobatan pasien TB secara tepat.
- b. Hasil penelitian ini diharapkan dapat diaplikasikan untuk mendiagnosis penyakit TB dan membantu menyelesaikan permasalahan TB di Indonesia dengan alat yang tepat, murah dan efisien.