SKRIPSI

DETEKSI MUTASI GEN *embB* SEBAGAI PENANDA RESISTEN *ETAMBUTOL* TERHADAP ISOLAT *Mycobacterium tuberculosis* MENGGUNAKAN *PCR-SEQUENSING*

Diajukan Sebagai Syarat Dalam Meraih Gelar Sarjana Terapan Kesehatan (S.Tr.Kes) Pada Program Studi Diploma Empat (DIV) Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Teknologi Kesehatan Universitas Megarezky

RATU BILQIS ILAHI. S

B1D121163

PROGRAM STUDI DIV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS

FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN

UNIVERSITAS MEGAREZKY

MAKASSAR

2025

HALAMAN JUDUL SKRIPSI

DETEKSI MUTASI GEN *embB* SEBAGAI PENANDA RESISTEN *ETAMBUTOL* TERHADAP ISOLAT *Mycobacterium tuberculosis* MENGGUNAKAN *PCR-SEQUENSING*

DETECTION OF embB GENE MUTATIONS AS A MARKER OF RESISTANCE *ETAMBUTOL* AGAINS *Mycobacterium tuberculosis* USING *PCR-SEQUENCING*

RATU BILQIS ILAHI. S
B1D121163

Dibimbing oleh

Dr. Nirmawati Angria S.SI. M. Kes
Pembimbing 1
Ayusti Dirga S.Si.,M.Sc
Pembimbing 2
Dr. Handayani H, Si.,M.Kes
Penguji

PROGRAM STUDI DIV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN
UNIVERSITAS MEGAREZKY
MAKASSAR
2025

LEMBAR PENGESAHAN
SKRIPSI

DETEKSI MUTASI GEN embB SEBAGAI PENANDA RESISTEN ETAMBUTOL TERHADAP ISOLAT Mycobacterium tuberculosis MENGGUNAKAN PCR-SEQUENCING

Disusun dan diajukan oleh
RATU BILQIS ILAHI. S
Nomor Induk Mahasiswa B1D121163
Telah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi
Pada tanggal 05 AGUSTUS 2025
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Tim Penguji	**Tanda Tangan**
1. Dr. Handayani H, Si.,M.Kes	( )
2. Dr. Nirmawati Angria S.Si.,M.Kes	( )
3. Ayusti Dirga S.Si.,M.Sc	( )

Mengetahui,

Dekan	**Ketua Program Studi**
Fakultas Teknologi Kesehatan	**DIV Teknologi Laboratorium Medis**
Prof. Dr. Dra. apt. Hj. Asnah Marzuki, M.Si	Dr. Nirmawati Angria, S.Si., M.Kes
NUPTK : 1350727628230013	NUPTK : 6950765666230332

iii

SURAT KETERANGAN TURNITIN



LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT (LPPM)

UNIVERSITAS MEGAREZKY

SK. Menristekdikti RI. No.1194/KPT/I/2018 Terakreditasi BAN PT

Kampus II : Jalan Antang Raya No. 43 Telp. 0411 - 452 401 - 458401 Fax. 458614 Website : http://universitasmegarezky.ac.id Email : info@universitasmegarezky.ac.id

KETERANGAN LOLOS UJI TURNITIN

No.094 /T/07.091056/XI /2025

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama	: Syamsyuriyana Sabar, S.Kep., Ns., M.Kep
NIDN	: 0915118602
Jabatan	: Ketua LPPM

Menyatakan bahwa :

Nama	: Ratu Bilqis Ilahi. S
NIM	: B1D121163
Prodi	: DIV Teknologi Laboratorium Medis
Judul Skripsi/KTI	: Deteksi Mutasi Gen embB Seabagai Penanda Resisten Etambutol Terhadap Isolat *Mycobacterium tuberculosis* Menggunakan *PCR-Sequencing*

Telah melalui uji *similarity* dengan software *Turnitin* dan dinyatakan lolos dengan **persentase 26%** sesuai bukti terlampir.

Demikian Surat Keterangan ini di buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 19 November 2025

Ketua,

Ns. Syamsyuriyana Sabar, M.Kep

NIDN: 09 151186 02

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan segenap kerendahan hati saya dan rasa syukur yang mendalam kepada tuhan yang maha esa, skripsi ini ku persembahkan kepada:

1. Kepada orang tua penulis Bapak Drs. Sulham landu dan Ibu Milawaty Terima kasih atas segala cinta yang tak pernah lelah, doa yang tak pernah putus, serta kesabaran yang tiada batasnya. Keringat dan lelah kalian adalah fondasi dari setiap pencapaian yang kuraih. Dalam diam kalian mendoakan, semoga aku dapat menjadi anak yang mampu membalas meski takkan pernah sebanding.
2. Kepada orang tua angkat Papi Rd. Anwarsyah dan Mama Ria Saba tercinta yang telah menerima dan menyayangiku seperti darah daging sendiri. Terima Kasih telah menjadi tempatku berpulang, tempat dimana aku belajar arti ketulusan dan kasih yang tak bersayarat dalam setiap doa kalian. Pengorbanan dan kasih sayang kalian adalah alasan mengapa aku mampu sampai dititik ini. Meskipum aku tak lahir dari rahim kalian tapi cinta dan kehangatan kalian telah menumbuhkanku dengan utuh. Aku akan selalu bangga dan bersukur telah menajdi bagian dari hidup kalian.
3. Kepada Saudara-saudaraku Fadel Aqnya Taqwa sulham, Rois Raja Fathan. S, dan Fadhillah Fitri Ilahi. S. Terima kasih atas doa, tawa, dukungan dan kebersamaan yang tulus dalam setiap canda dan nasihat, kalian hadir sebagai sahabat dan terima kasih atas segala dukungan yang tak pernah putus.
4. Kepada teman seperjuangan Rini, Elvi, Ilga, Fena, Tasya, Iin, Riska, Lidya, Terima kasih atas segala kenangan yang tak akan terlupa yang telah menjadi bagian dari perjalanan luar biasa ini bersama kalian, aku belaja banyak hal lelahnya menysusun tugas, paniknya menghadapi ujian, begadang hingga larut malam, hingga tawa yang mewarnai setiap prosesnya.

Akhir kata Semoga lembar-lembar ini tak hanya menjadi tanda pencapaian akademik,tetapi juga wujud cinta, hormat, dan terima kasih bagi setiap orang yang pernah menjadi bagian dari perjalanan ini.

MOTTO

"Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya."

QS. Al-Baqarah (2): 286

"Doa adalah kekuatan, usaha adalah jalan, dan tawakal adalah kunci menuju keberhasilan.

Ratu Bilqis Ilahi. S

CURRICULUM VITAE



Ratu Bilqis Ilahi. S

B1D121163

Program Studi : DIV Teknologi Laboratorium Medis

Alamat : Kolaka

Riwayat Pendidikan

a. Pendidikan Dasar : SD 1 Lamekongga
b. Pendidikan Menengah Pertama : SMP Negeri 1 Wundulako
c. Pendidikan Menengah Atas : SMA Negeri 1 Wundulako

Orang Tua

a. Ayah : Drs. Sulham Landu
b. Ibu : Milawaty
c. Alamat : Kolaka

Pesan dan Kesan

Selama masa perkuliahan, saya merasakan banyak hal yang sangat berharga. Mulai dari tantangan akademik, pengalaman organisasi, hingga membangun relasi dengan teman-teman dari berbagai latar belakang Dosen-dosen yang inspiratif dan teman-teman yang suportif turut membentuk perjalanan perkuliahan saya menjadi pengalaman yang tak terlupakan.

Untuk teman-teman dan adik-adik tingkat, nikmatilah proses perkuliahan ini sebaik mungkin. Jangan hanya fokus pada nilai, tetapi juga tumbuhlah secara pribadi dan sosial. Untuk para dosen, terima kasih atas ilmu, bimbingan, dan dedikasinya. Semoga terus menginspirasi generasi berikutnya.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadiran Allah Subhanahu Wa Ta'ala karena atas rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini yang berjudul "Deteksi Mutasi Gen *embB* Seabagai Penanda Resisten Etambutol Terhadap Isolat *Mycobacterium Tuberculosis* Menggunakan PCR-Sequencing"

Penyusunan karya tulis ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan tugas akhir pendidikan di Jurusan D-IV Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Teknologi Kesehatan Universitas Megarezky Makassar. Penulis menyadari bahwa tanpa bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak, karya tulis ini tidak akan dapat terselesaikan dengan baik.

Dengan penuh rasa hormat dan cinta, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada kedua orang tua tercinta **Drs. Sulham landu dan Milawaty,** Serta orang tua angkat saya **Ria saba dan Rd. anwarsyah,** yang senantiasa mendoakan, mendampingi, serta memberikan semangat, kasih sayang, dan dukungan moral maupun materil tanpa henti. Tanpa keikhlasan dan doa dari Ayah dan Ibu yang senantiasa memberikan semangat selalu mendoakan Kesehatan dan keberhasilan peneliti penyusunan Skripsi ini tidak akan pernah terwujud.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya juga penulis sampaikan kepada:

1. **Bapak Dr. H. Alimuddin, SH., MH., M.Kn sebagai Pembina Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar**, atas arahan dan pembinaan yang senantiasa menjadi fondasi dalam pengembangan institusi dan mahasiswa
2. **Ibu Alm. Hj. Suryani, SH., MH sebagai Pendiri Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar**, atas dedikasi dan kontribusi luar biasa dalam mendirikan lembaga pendidikan yang menjadi wadah pengembangan ilmu dan karakter.
3. **Bapak Moch. Noer Alim Qolby, S.H., LLM Sebagai Ketua Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar**, atas dukungan dan kebijakan strategis yang memfasilitasi proses pendidikan dan penelitian secara

berkelanjutan.

4. **Bapak Prof. Dr. Anwar Ramli, SE., M.Si sebagai Rektor Universitas Megarezky**, atas motivasi dan arahannya dalam membangun budaya akademik yang unggul dan berdaya saing.
5. **Ibu Prof. Dr. Dra. Apt. Hj Asnah Marzuki, S. Si., M.Si**,sebagai **Dekan Fakultas Teknologi Kesehatan Universitas Megarezky**, atas kesempatan dan dukungan yang diberikan selama masa studi.
6. **Ibu Dr. Nirmawati Angria S.SI. M. Kes sebagai Ketua Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis** atas bimbingan akademik yang berkelanjutan dan inspiratif.
7. **Dosen Pembimbing Dr. Nirmawati Angria S.SI. M. Kes**, yang telah memberikan arahan, saran, dan evaluasi dalam penyusunan karya tulis ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
8. **Dosen Pembimbing Ayusti Dirga S.Si.,M.Sc**, yang telah memberikan arahan, saran, dan evaluasi dalam penyusunan karya tulis ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
9. **Dosen Penguji Dr. Handayani H, Si., M. Kes selaku penguji** yang telah banyak memberikan arahan dan masukan selama ujian
10. **Ibu Dr. Handayani H, Si., M. Kes sebagai Pembimbing Akademik (PA),** atas pendampingan dan bimbingan akademik selama masa studi penulis
11. **Seluruh Dosen dan Staf Akademik Universitas Megarezky**, atas ilmu, perhatian, dan pelayanan yang diberikan selama proses studi.
12. **Hasanuddin University Medical-Research Center (HUM-RC)** Makassar atas izin, dukungan, dan kerja samanya selama pelaksanaan penelitian.
13. **Teman-teman seperjuangan saya Rini, Evi, Iin, Tasya, Ilga, Fena, Riska, Lidya** yang turut membantu secara langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan karya ilmiah ini.
14. **Tim Laboratorium/Perpustakaan** atas bantuan teknis dan fasilitas yang diberikan selama proses penelitian.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan karya ilmiah ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun

sangat penulis harapkan demi kesempurnaan karya ini di masa mendatang. Akhir kata, semoga karya ilmiah ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca, serta menjadi kontribusi yang berarti dalam pengembangan ilmu pengetahuan

Makassar, 5 Agustus 2025

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL ..... **ii**
LEMBAR PENGESAHAN SEMINAR HASIL ..... **iii**
MOTTO ..... **iv**
HALAMAN PERSEMBAHAN ..... **v**
CURRICULUM VITAE ..... **vi**
KATA PENGANTAR ..... **vii**
DAFTAR ISI ..... **ix**
DAFTAR TABEL ..... **xi**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **xii**
DAFTAR GAMBAR ..... **xii**
DAFTAR SINGKATAN ..... **xv**
ABSTRAK ..... **xv**
BAB I PENDAHULUAN **1**
A. Latar Belakang 1
B. Rumusan Masalah 5
C. Tujuan Penelitian 5
D. Manfaat Penelitian 6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA **7**
A. Tinjauan Umum *Tuberculosis* 7
B. Tinjauan Umum *Mycobacterium tuberculosis* 9
C. Tinjauan Umum Respon Imun 18
D. Tinjauan Umum Etambutol 19
E. Tinjauan Umum Gen *embB* 24
F. Tinjauan Umum *Polymerase Chain Reaction* 26
G. Tinjauan Umum *Sequencing* 29
H. Kerangka Teori 31
I. Kerangka Konsep 32
J. Definisi Operasional 32
BAB III METODE PENELITIAN **34**

A. Jenis Penelitian 34
B. Waktu Dan Tempat Penelitian 34
C. Populasi Dan Sampel 34
D. Kriteria Sampel 34
E. Prosedur Kerja Penelitian 35
F. Teknik Analisa Data 38
G. Etika Penelitian 38
H. Alur Kerja 39
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 42
A. Hasil Penelitian 42
B. Pembahasan 45
BAB V PENUTUP 53
A. Kesimpulan 53
B. Saran 53
DAFTAR PUSTAKA 55
LAMPIRAN 58

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* 12
Gambar 2.2 Patogenesis bakteri *M. Tuberculosis*..... 14
Gambar 2.3 Struktur etambutol 22
Gambar 2.4 Komponen dan tahapan PCR..... 28
Gambar 2.5 Kerangka Teori 30
Gambar 2.6 Kerangka Konsep 31
Gambar 3.1 Alur Penelitian..... 39

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Perhitungan *Mix PCR* (Deteksi Gen *embB*).....37
Tabel 4.1 Jenis Pengunaan Antibiotik.....42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Penelitian Dari Penanaman Modal PTSP.....58
Lampiran 2. Surat Kode Etik 59
Lampiran 3. Surat Selesai Meneliti.....60
Lampiran 4. Dokumentasi.....61

DAFTAR SINGKATAN

TB	: *Tuberculosis*
MTB	: *Mycobacterium tuberculosis*
BTA	: Basil Tahan Asam
OAT	: Obat Anti Tuberculosis
Emb	: *Ethambutol*
embB306	: *Ethambutol* Kodon 306
DNA	: *Deoxyribo Nucleic Acid*
RNA	: *Ribonucleic Acid*
PCR	: *Polymerase Chain Reaction*
EtBr	: *Etidium Bromida*
WHO	: *Word Healt Organisation*
PCR-Sequencing	: *Polymerase Chain Reaction Sequencing*
TB-MDR	: Tuberculosis *Multi Drug* Resisten

ABSTRAK

Ratu Bilqis Ilahi. S, B1D121163, Deteksi Mutasi *Gen embB* Sebagai Penanda Resisten *Etambutol* Terhadap Isolat *Mycobacterium tuberculosis* Menggunakan *PCR-Sequencing.* Dibimbing oleh Nirmawati Angria dan Ayusti Dirga

Tuberculosis (TB) adalah penyakit yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Bakteri ini dapat mengalami resistensi terhadap beberapa obat, termasuk etambutol, yang merupakan salah satu obat anti-TB. Resistensi terhadap etambutol sering dikaitkan dengan adanya mutasi pada gen *embB*. Mutasi pada gen ini dapat digunakan sebagai penanda molekuler untuk mendeteksi resistensi *Mycobacterium tuberculosis* terhadap etambutol.Tujuan penelitian ini adalah untuk deteksi mutasi Gen *embB* sebagai penanda resisten terhadap etambutol pada *Mycobacterium tuberculosis.* Penelitian ini menggunakan jenis penelitian observasi laboratorium dengan desain *cross sectional study* menggunakan isolat *tuberculosis* sebanyak 14 sampel yang tersimpan di HUM-RC. Pemeriksaan sampel dilakukan dengan menggunakan metode *PCR-Sequencing*, untuk melihat terjadinya mutasi. Hasil PCR yang disajikan dalam bentuk visual elektroforesis menunjukan keberadaan gen *embB* yang terdeteksi pada target 929bp pada 8 sampel. Hasil data *sequencing* yang dianalisis menggunakan *Software Bioedit* menunjukan gen *embB* yaitu subtitusi/perubahan basa *G>C* pada 821Nt, T>G pada 845Nt, dan A>C pada 1039Nt, A>C pada 1061Nt. Sehingga dari 14 sampel ditemukan mutasi gen embB pada 8 (57%) dari 14 sampel terjadi resisten di sulawesi selatan.

Kata Kunci: *Gen embB*, Isolat TB, *PCR- Sequencing*

ABSTRAK

Ratu Bilqis Ilahi, S, BID121163, Detection of embB Gene Mutations as a Marker of Ethambutol Resistance in *Mycobacterium tuberculosis* Isolates Using PCR-*Sequencing*. Supervised by Nirmawati Angria and Ayusti Dirga

Tuberculosis (TB) is a disease caused by *Mycobacterium tuberculosis*. This *bacterium* can develop resistance to several drugs, including ethambutol, an anti-TB drug. Resistance to ethambutol is often associated with mutations in the embB gene. Mutations in this gene can be used as a molecular marker to detect *Mycobacterium tuberculosis* resistance to ethambutol. This study aimed to detect embB gene mutations as a marker of ethambutol resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. This study used a laboratory observational study with a cross-sectional design using 14 tuberculosis isolate samples stored at HUM-RC. Sample examination was performed using the PCR-*Sequencing* method to detect mutations. PCR results presented in visual electrophoresis showed the presence of the embB gene, detected at 929 bp in eight samples. Sequencing data analyzed using Bioedit software revealed substitutions/base changes in the embB gene: G>C at 821Nt, TG at 845Nt, and AC at 1039Nt and AC at 1061Nt. Thus, mutations in the *embB* gene were found in eight (57%) of the 14 samples, leading to resistance in South Sulawesi.

Keywords: *embB* Gene, TB Isolates, PCR-*Sequencing*

BAB I
PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tuberculosis (TB) adalah penyakit yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Tuberculosis bisa menyerang bagian paru-paru dan dapat menyerang semua bagian tubuh. *Tuberculosis* adalah penyakit menular langsung, sebagian besar kuman TB menyerang paru-paru, tetapi dapat juga mengenai organ tubuh lainnya (Sari dkk., 2022)

Berdasarkan data Global TB Report 2023, menunjukan pada tahun 2022 sebanyak 10,6 juta orang terjangkit TBC di seluruh dunia. Hal ini menunjukkan terjadinya kenaikan jumlah kasus TBC dari tahun 2021 (10,3 juta) dan 2020 (10 juta). Secara geografis, pada tahun 2022, penduduk terbanyak yang terjangkit TB berada di wilayah WHO di Asia Tenggara (46%), Afrika (23%) dan Pasifik Barat (18%), dengan negara-negara kecil proporsi yang lebih besar di Mediterania Timur (8,1%), Amerika (3,1%) dan Eropa (2,2%). Beban tertinggi TBC berasal dari 30 negara yang menyumbang 87% dari seluruh perkiraan kasus insiden di seluruhduniadan delapan di antaranya di negara-negara tersebut menyumbang lebih dari dua pertiga kasus total global: India (27%), Indonesia (10%), Tiongkok (7,1%), Filipina (7,0%), Pakistan (5,7%), Nigeria (4,5%), Bangladesh (3,6%) dan Republik Demokratik Kongo (3,0%) (WHO, 2023).

Kasus *tuberculosis* di Indonesia menurut data kemenkes RI 2024 dari 2021 tercatat sebanyak 443. 236 kasus TB yang dibandingkan dengan tahun 2020

yaitu sebesar 393.323 kasus. Sedangkan pada tahun 2022 telah tercatat sebanyak 724.309 kasus TB yang ditemukan dan diobati di Indonesia, 2021 terdapat sebanyak 443.235 kasus TB yang ditemukan dan diobati. Tercatat 543.874 kasus ternotifikasi kasus tuberculosis dan pada tahun 2023 tercatat sebanyak 820.789 (Kemenkes RI, 2024).

Di Sulawesi Selatan, jumlah penderita TBC Paru perkabupaten/ Kota tahun 2019 sebanyak 19.071 kasus dengan jumlah penderita laki-laki sebanyak 11.226 orang dan perempuan 7.845 orang dengan kesembuhan pada tahun 2019 berjalan sebanyak 5.366 orang (46.75%) Kota Makassar menempati peringkat pertama dalam jumlah kasus TBC di Sulawesi Selatan yaitu sebanyak 5.418 kasus. Data Riskesdas 2018 menunjukkan, prevalensi TBC berdasarkan riwayat diagnosis dokter di kota Makassar sebesar 0,47%. Jumlah kasus baru TBC cenderung mengalami penurunan di tahun 2021 yaitu sebesar 2.614 kasus terdaftar dari semua fasilitas pelayanan kesehatan dan mendapatkan pengobatan, berdasarkan data 20 November 2024, jumlah kasus baru telah mencapai 27.256. Sementara itu, pada tahun 2023, jumlah pasien TBC yang berhasil diidentifikasi sebanyak 27.141 kasus," OAT (Rismayanti dkk., 2023).

Penyebab utama meningkatnya angka penyakit *tuberkulosis* disebabkan oleh agen infeksi yaitu *Mycobacterium tuberculosis* (Sari dkk., 2022). *Mycobacterium tuberculosis* adalah salah satu dari banyak mikroba yang infeksinya menyebabkan perubahan pada pola epigenetik inang. Proses epigenetik mengubah ekspresi gen tanpa mengubah urutan DNA-nya (Angria *et al*., 2022).

Mycobacterium tuberculosis yang resistan terhadap banyak obat (MDR) dan tuberculosis yang resistan terhadap banyak obat merupakan ancaman besar bagi kesehatan global. Pemahaman yang lebih baik tentang mekanisme. Molekuler yang menyebabkan resistensi obat dapat membantu upaya untuk mengendalikan bentuk penyakit yang parah ini. Resistensi terhadap antibiotik ini, membantu menilai sebenarnya dari mutasi yang di anggap sebagai penanda diagnostik potensial resistensi obat terhadap *etambutol* dan MDR-TB, dan akhirnya membantu memahami mekanisme yang terakit dengan resistensi tersebut (Cuevas-Córdoba *et al*., 2015) .

Resistensi terhadap obat anti tuberkulosis (OAT) ada 3 macam yaitu mutan yang resisten, resistensi sekunder/ resistensi yang diperoleh dan resistensi primer. Resistensi terhadap OAT dapat timbul karena beberapa faktor antara lain pemberian terapi TB yang tidak kuat akan menyebabkan mutan resisten. Hal ini amat ditakuti karena dapat terjadi resisten terhadap OAT ini pertama, masa infeksius yang terlalu panjang akibat keterlambatan diagnosis akan menyebabkan penyebaran jalur resisten obat. Pasien dengan TB-MDR diterapi dengan OAT jangka pendek akan tidak sembuh dan akan menyebarkan kuman yang resisten, pasien dengan OAT yang resisten terhadap kuman tuberkulosis yang mendapat pengobatan jangka pendek dengan monoterapi akan menyebabkan bertambah banyaknya OAT yang resisten dimana hal ini menyebabkan seleksi mutasi resisten karena penambahan obat yang tidak multipel dan tidak efektif (Utary dkk., 2020).

Salah satu obat anti Tuberculosis (OAT) yang digunakan dalam program

pengobatan *tuberkulosis* adalah isoniazid, rifampisin, streptomisin dan etambutol. Obat ini bisa memicu terjadinya resistensi salah satunya obat etambutol, Terjadinya resistensi etambutol di tandai dengan adanya gen *emb* (Widayanti *dkk*., 2018)

Gen *Emb* yang menyandi *enzim transferase* berkaitan langsung dengan sifat resistensi *Mycobacterium tuberculosis* terhadap *ethambutol*. *Ethambutol* termasuk obat ini pertama pengobatan TB yang berkhasiat spesifik terhadap mikobakteri dan tidak terhadap bakteri-bakteri lain. Kerja bakteriostatiknya mungkin berdasarkan penghambatan sintesis (Utary dkk., 2020).

Mutasi pada e*mbB* kodon 306 (*embB*306) menjadi yang paling umum pada kebanyakan penelitian. Berbagai penelitian telah mengidentifikasi adanya 5 mutasi pada kodon 306 (ATG), yaitu ATG GTG/CTG/ATA, ATC dan ATT. Akibatnya *metionin* (ATG) diganti oleh *valin, leusin atau isoleusin* (Siregar, 2019).

Metode yang di gunakan untuk mendeteksi adanya mutasi gen *embB* adalah menggunakan Teknik PCR sequencing menggunakan metode PCR-*Sequencing*, dimana PCR yang digunakan pada penelitian ini adalah PCR Konvensional karena metode ini salah satu alternatif untuk deteksi suatu penyakit yang cukup akurat dan relatif lebih murah, jika dibandingkan dengan metode lain. Metode *sequencing* adalah teknik yang digunakan untuk mengurutkan seluruh nukleotida dalam DNA atau gen, yang juga mencakup pengurutan asam amino secara cepat dan akurat. Tujuan *sequensing* untuk mengidentifikasi urutan basa nitrogen, yaitu *adenin, guanin, sitosin*, dan timin,

dalam sampel DNA. Kemudian dilakukan metode sequencing untuk mengidentifikasi adanya gen *embB* terhadap *Mycobacterium tuberculosis (Tasma, 2015).*

Pada Penelitian sebelumnya oleh Arianti dkk, (2022) menunjukan bahwa terdapat resistensi *Mycobacterium tuberculosis* terhadap antibiotik *Rifampisin* 23,53%, *etambutol* 29,4%, dan *izoniasid* 35,5%. Dan pada penelitian Clin *et al*., (2015) terdapat mutasi pada kodon *embB*306 telah diusulkan sebagai penanda molekuler untuk resistensi *EMB* dalam tes diagnostik. Studi terbaru menunjukkan bahwa mutasi *embB*306 berhubungan dengan resistensi obat *etambutol*. Resistensi *EMB*, yang menunjukkan mutasi *embB*306 dapat digunakan sebagai penanda molekuler untuk MDR-TB.

Berdasarkan uraian di atas maka peneliti mengangkat judul penelitian ini karena peneliti ingin mengetahui apakah terdeteksi *gen embB* yang resisten terhadap antibiotik *etambutol* dengan menggunakan metode *PCR-Sequensing*, dimana peneliti menggunakan sampel isolat untuk mendeteksi antigen dalam tubuh pasien. Pada penelitian ini digunakan sampel isolate *tuberculosis*.

B. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah apakah terdeteksi mutasi *Gen embB* sebagai penanda terjadi resisten terhadap *ethambutol* pada *Mycobacterium tuberculosis*?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan peneltian ini adalah untuk mendeteksi mutasi Gen *embB* sebagai penanda resisten terhadap *ethambutol* pada *Mycobacterium*

tuberculosis.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Praktis

Diharapkan agar menambah pengetahuan kepada tenaga Ahli Teknologi Laboratorium Medis dalam mendeteksi *Gen embB* dan berbagai gen yang resisten terhadap antibiotik.

2. Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini dapat menambah pengetahuan, wawasan, serta pengalaman penulis dalam mempelajari salah satu *Gen embB* sebagai penanda resistensi antibiotik etambutol terhadap *Mycobacterium tuberculosis.*

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Tuberkulosis

1. Definisi Tuberkulosis

Secara definisi, *Tuberkulosis* diartikan sebagai infeksi yang diakibatkan oleh infeksi kuman *Mycobacterium tuberculosis* atau dikenal dengan istilah MTB yang pada kebanyakan kasus ditemukan menyerang organ paru-paru, meski begitu infeksi ini juga dapat memengaruhi berbagai organ tubuh lainnya. Penyakit ini banyak menyerang orang dewasa usia produktif serta penderita gangguan sistem kekebalan tubuh. Penularan bakteri penyebab TB bersumber dari penderita TB Paru yang aktif atau mendapatkan hasil uji positif pada pengujian bakteri tahan asam (Febriani dkk., 2022).

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit menular yang menjadi penyebab utama kesakitan dan salah satu penyebab kematian di dunia. TB disebabkan oleh bakteri basil *Mycobacterium tuberculosis.* Penyebaran penyakit ini ketika orang sakit TB mengeluarakan bakteri ke udara, contohnya ketika batuk. Penyakit TB biasanya mengenai paru-paru atau disebut dengan *pulmonary TB.* Namun, dapat juga mengenai bagian tubuh lain atau disebut *extrapulmonary TB* (Meliasari, 2021)

Tuberkulosis paru yang sering dikenal dengan TBC paru disebabkan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) dan termasuk penyakit menular. TBC paru mudah menginfeksi pengidap

HIV AIDS, orang dengan status gizi buruk dan dipengaruhi oleh daya tahan tubuh seseorang. Penularan TBC paru terjadi ketika penderita TBC paru BTA positif bicara, bersin atau batuk dan secara tidak langsung penderita mengeluarkan percikan dahak di udara dan terdapat ±3000 percikan dahak yang mengandung kuman (Nurdin dkk, 2022).

2. Faktor – Faktor Kejadian Tuberculosis

Menurut Sejati & Sofiana, (2015). Kejadian tuberkulosis dipengaruhi oleh beberapa faktor sebagai berikut:

a. Tuberkulosis adalah faktor umur karena insiden tertinggi penyakit tuberkulosis adalah pada usia dewasa muda di Indonesia diperkirakan 75% penderita tuberkulosis adalah pada kelompok usia produktif.
b. Jenis kelamin yang lebih banyak menyerang laki-laki daripada wanita, karena sebagian besar mempunyai kebiasaan merokok.
c. Kebiasaan merokok yang dapat menurunkan daya tahan tubuh, sehingga mudah untuk terserang penyakit terutama pada laki-laki yang mempunyai kebiasaan merokok
d. Kepadatan hunian yang merupakan faktor lingkungan terutama pada penderita tuberculosis yaitu kuman *M. tuberculosis* dapat masuk pada rumah yang memiliki bangunan yang gelap dan tidak ada sinar matahari yang masuk
e. Pekerjaan yang merupakan faktor risiko kontak

langsung dengan penderita. Risiko penularan tuberkulosis pada suatu pekerjaan adalah seorang tenaga kesehatan yang secara kontak langsung dengan pasien walaupun masih ada beberapa pekerjaan yang dapat menjadi faktor risiko yaitu seorang tenaga pabrik.

f. Status ekonomi yang merupakan faktor utama dalam keluarga masih banyak rendahnya suatu pendapatan yang rendah dapat menularkan pada penderita tuberculosis karena pendapatan yang kecil membuat orang tidak dapat layak memenuhi syarat-syarat kesehatan.

B. Tinjauan Umum *Mycobacterium tuberculosis*

1. Definisi *Mycobacterium tuberculosis*

Mycobacterium tuberculosis merupakan bakteri gram positif yang bersifat aerob obligat (bakteri yang mutlak memerlukan oksigen bebas dalam hiudpnya). Tidak mempunyai *endospore* dan kapsul, tidak motil, tahan terhadap asam, bentuk sel batang dengan ukuran 0,2 – 0,4 x2 – 10μm, tumbuh pada suhu 37°C dengan pertumbuhan yang lambat yaitu 2-60 hari. Genus bakteri ini mempunyai karakteristik yang unik karena memiliki dinding sel yang kaya akan lipid dan lapisan tebal peptidoglikan yang mengandung asam mikolat, *arabinogalaktan*, dan *lipoarabinomanan*. Asam mikolat ini hanya dijumpai pada dinding sel bakteri genus *mycobacterium* (Mar'iyah & Zulkarnain, 2021).

Genom *M. tuberculosis* terdiri dari 4,41 Mb (*Mega Base*) pasangan basa dan mengandung 4.009 gen. Keunikan dari genom *M. tuberculosis* dibandingkan dengan genom bakteri lain adalah pada banyaknya gen

yang terlibat dalam proses *lipogenesis* dan *lipolisis*. Gen tersebut diduga terkait dengan sintesis dan pemeliharaan dinding sel bakteri. Sekitar 52% dari protein yang disintesis dari gen tersebut telah diketahui fungsinya. Dari analisis genetik tersebut, diketahui bahwa *M. tuberculosis* memiliki potensi untuk bertahan hidup dalam lingkungan yang bervariasi, termasuk dalam lingkungan dengan tekanan oksigen yang sangat rendah. Hal ini menyebabkan *M. tuberculosis* dapat bertahan *dormant* di dalam tubuh dalam kondisi yang tidak optimal dan dapat mengalami reaktivasi di kemudian hari jika situasi lingkungan memungkinkan (Isbaniah dkk., 2021).

Mycobacterium memiliki 120 spesies dengan delapan spesies di antaranya adalah *M. tuberculosis complex. M. tuberculosis complex* terdiri dari delapan spesies yaitu: *M. tuberculosis, M. bovis, M. Caprae, M. africanum, M. microti, M. canneti, M. pinnipedii* (Isbaniah dkk., 2021).

Menurut (Gordon & Parish, 2018), Taksonomi *Mycobacterium tuberculosis* adalah sebagai berikut:

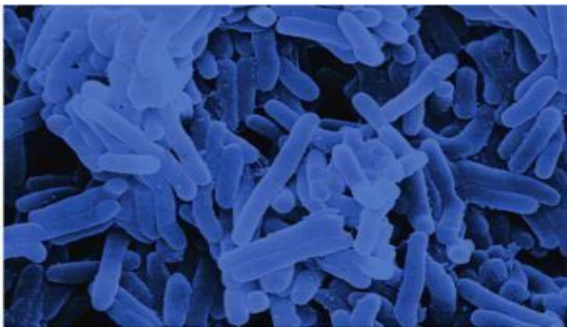
Filum : *Actinobacteria*

Classis : *Actinobacteria*

Ordo : *Actinomycetales* Familia *Mycobacteriaceae*

Genus : *Mycobacterium*

Species : *Mycobacterium tuberculosis*



Gambar 2.1 Bakteri *Mycobacterium Tuberculosis*
(Irianti & Kuswandi, 2016)

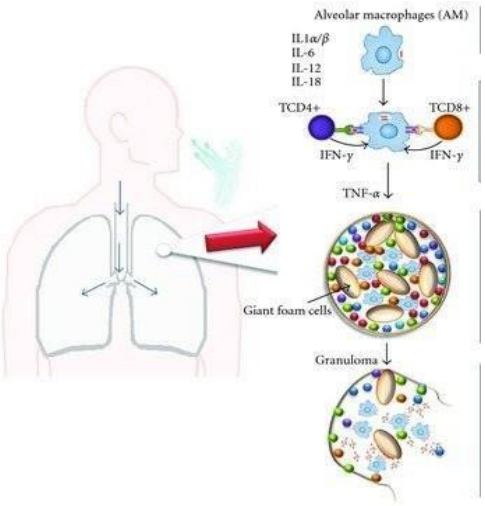
Bakteri tahan asam adalah kelompok bakteri yang mempunyai sifat khusus tahan terhadap dekolorisasi atau pelunturan warna dengan asam alkohol sehingga digolongkan sebagai bakteri gram positif. Kelompok bakteri ini memiliki bentuk batang atau basil sehingga dikenal juga dengan sebutan Basil Tahan Asam (BTA). Bakteri yang tergolong dalam kelompok basil tahan asam adalah bakteri yang berasal dari genus *Mycobacteria,* salah satu diantaranya adalah *Mycobacterium tuberculosis* patogen pemicu timbulnya infeksi tuberkulosis (Febriani dkk., 2022).

2. **Patogenesis *Mycobacterium tuberculosis***

Penyakit tuberkulosis disebabkan karena infeksi oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang merupakan bakteri aerobik obligat sehingga lebih menyukai jaringan yang kaya akan oksigen. Oleh karena itu, bakteri ini biasanya menyerang pertama kali pada jaringan pernapasan terutama paru-paru yang memiliki tekanan apikal lebih tinggi dibandingkan jaringan lain yang akan mendukung pertumbuhan bakteri ini. *Mycobacterium tuberculosis* dapat menular melalui transmisi udara. Penularannya melalui partikel yang dapat terbawa

melalui udara (*airborne*) yang disebut dengan droplet nuklei, dengan ukuran 1-5 mikron. Droplet nuklei dapat bertahan di udara hingga beberapa jam tergantung dari kondisi lingkungan. Droplet nuklei memiliki sifat aerodinamis yang memungkinkannya masuk ke dalam saluran napas melalui inspirasi hingga mencapai bronkiolus respiratorius dan alveolus. Bila inhalasi droplet nuklei yang terinhalasi berjumlah sedikit, kuman TB yang terdeposisi pada saluran napas akan segera difagosit dan dicerna oleh sistem imun nonspesifik yang diperankan oleh makrofag (Isbaniah dkk., 2021).

Patogenesis dari TB terkait erat dengan respon imun dari inang (*host*). Pada sebagian besar inang, invasi patogen TB akan direspon secara adekuat oleh sistem imun, membatasi pertumbuhan bakteri, dan mencegah terjadinya infeksi. Secara paradoks, sebagian besar kerusakan jaringan yang ditimbulkan pada infeksi TB justru berasal dari respon imun inang, misalnya pada kejadian nekrosis perkijuan dan kavitas yang khas dilihat pada paru pasien TB. Tidak semua orang yang terpajan dengan patogen TB akan berkembang menjadi penyakit TB. Secara skematis, persentase orang terpajan TB yang akan berkembang menjadi penyakit TB (Isbaniah dkk., 2021).



Gambar 2.2 Patogenesis Bakteri *M. Tuberculosis Penyebab Tuberculosis* (Zuñiga *et al.*, 2012)

Setelah inang terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis,* ada kemungkinan 10% bahwa ia akan mengembangkan tuberkulosis aktif dan bakteri tersebut dapat menyerang banyak organ. Individu yang sehat dapat terinfeksi melalui saluran pernapasan,saluran pencernaan, kulit yang rusak dan selaput lendir. Menghirup droplet yang mengandung *Mycobacterium tuberkulosis* adalah rute utama infeksi. Membran sel bakteri yang kompleks mengandung asam lemak rantai cabang metil yang melindunginya dari enzim inang dan memungkinkan mereka untuk menghindari respons imun. Ada berbagai aspek interaksi makrofag-mikobakteri, seperti pengikatan *Mycobacterium tuberculosis* ke makrofag melalui reseptor permukaan, *fusi fagosom-lisosom* pertumbuhan mikobakteri, penghambatan/kerusakan melalui mekanisme radikal bebas (oksigen reaktif dan perantara nitrogen) mekanisme untuk merekrut sel imun aksesori untuk respon inflamasi lokal dan penyajian antigen ke sel T untuk pengembangan imunitas yang didapat (Zhai *et al*., 2019).

3. **Patofisiologi *Mycobacterium tuberculosis***

Seseorang yang menghirup bakteri *M. tuberculosis* yang terhirup akan menyebabkan bakteri tersebut masuk ke alveoli melalui jalan nafas, alveoli adalah tempat bakteri berkumpul dan berkembang biak. *Mycobacterium tuberculosis* juga dapat masuk ke bagian tubuh lain seperti ginjal, tulang, dan korteks serebri dan area lain dari paru-paru (lobus atas) melalui sistem limfa dan cairan tubuh. Sistem imun dan sistem kekebalan tubuh akan merespon dengan cara melakukan reaksi inflamasi. Fagosit menekan bakteri, dan limfosit spesifik tuberkulosis menghancurkan (melisiskan) bakteri dan jaringan normal. Reaksi tersebut menimbulkan penumpukan eksudat di dalam alveoli yang bisa mengakibatkan *bronchopneumonia*. Infeksi awal biasanya timbul dalam waktu 2-10 minggu setelah terpapar bakteri (Mar'iyah & Zulkarnain, 2021).

Aerosolisasi berasal dari penderita tuberkulosi*s* aktif yang batuk, bersin, bersiul, berdahak, dan meludah. *Mycobacterium tuberkulosis* dapat bertahan di udara, dan terhirup oleh individu lain melalui droplet yang kemudian masuk ke kantong alveolus melalui inhalasi bakteri yang sudah terhirup akan bertahan di lobus alveolus akan menyebabkan bakteri tersebut masuk ke alveoli melalui jalan nafas, alveoli adalah tempat bakteri berkumpul dan berkembang biak. *Mycobacterium tuberculosis* juga dapat masuk ke bagian tubuh lain seperti ginjal, tulang, dan korteks serebri dan area lain dari paru-paru (lobus atas) melalui sistem limfa dan cairan tubuh. Sistem imun dan sistem kekebalan tubuh akan merespon dengan cara

melakukan reaksi inflamasi. Fagosit menekan bakteri, dan limfosit spesifik tuberkulosis menghancurkan (melisiskan) bakteri dan jaringan normal. Reaksi tersebut menimbulkan penumpukan eksudat di dalam alveoli yang bisa mengakibatkan *bronchopneumonia*. Infeksi awal biasanya timbul dalam waktu 2-10 minggu setelah terpapar bakteri (Mar'iyah & Zulkarnain, 2021).

Interaksi antara *Mycobacterium tuberculosis* dengan sistem kekebalan tubuh pada masa awal infeksi membentuk *granuloma*. *Granuloma* terdiri atas gumpalan basil hidup dan mati yang dikelilingi oleh makrofag. *Granulomas* diubah menjadi massa jaringan jaringan fibrosa, bagian sentral dari massa tersebut disebut *ghon tuberculosis* dan menjadi nekrotik membentuk massa seperti keju. Hal ini akan menjadi klasifikasi dan akhirnya membentuk jaringan kolagen kemudian bakteri menjadi dorman. Setelah infeksi awal, seseorang dapat mengalami penyakit aktif karena gangguan atau respon yang inadekuat dari respon sistem imun. Penyakit dapat juga aktif dengan infeksi ulang dan aktivasi bakteri dorman dimana bakteri yang sebelumnya tidak aktif kembali menjadi aktif. Pada kasus ini, *ghon tubrcle* memecah sehingga menghasilkan *necrotizing caseosa* di dalam bronkhus. Bakteri kemudian menjadi tersebar di udara, mengakibatkan penyebaran penyakit lebih jauh. Tuberkel yang menyerah menyembuh membentuk jaringan parut. Paru yang terinfeksi menjadi lebih membengkak, menyebabkan terjadinya *bronkopneumonia* lebih lanjut (Mar'iyah & Zulkarnain, 2021).

4. **Faktor Resiko *Mycobacterium tuberculosis***

Menurut Mar'iyah & Zulkarnain, (2021), Resiko penyakit tuberkulosis dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya sebagai berikut:

a. Umur menjadi faktor utama resiko terkena penyakit tuberkulosis karena kasus tertinggi penyakit ini terjadi pada usia muda hingga dewasa. Indonesia sendiri di perkirakan 75% penderita berasal dari kelompok usia produktif (15-49 tahun).
b. Jenis kelamin: penyakit ini lebih banyak menyerang laki-laki daripada wanita, karena sebagian besar laki laki mempunyai kebiasaan merokok.
c. Kebiasaan merokok dapat menurunkan daya tahan tubuh, sehingga mudah untuk terserang penyakit terutama pada laki-laki yang mempunyai kebiasaan merokok dan meminum alkohol.
d. Pekerjaan, hal ini karena pekerjaan dapat menjadi faktor risiko kontak langsung dengan penderita. Risiko penularan tuberkulosis pada suatu pekerjaan adalah seorang tenaga kesehatan yang secara kontak langsung dengan pasien walaupun masih ada beberapa pekerjaan yang dapat menjadi faktor risiko yaitu seorang tenaga pabrik.
e. Status ekonomi juga menjadi faktor risiko mengalami penyakit tuberkulosis, masyarakat yang memiliki pendapatan yang kecil membuat orang tidak dapat layak memenuhi syarat-syarat kesehatan.
f. Faktor lingkungan merupakan salah satu yang memengaruhi pencahayaaan rumah, kelembapan, suhu, kondisi atap, dinding, lantai

rumah serta kepadatan hunian. Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dapat masuk pada rumah yang memiliki bangunan yang gelap dan tidak ada sinar matahari yang masuk.

5. **Gejala dan Pengobatan *Mycobacterium tuberculosis***

Mar'iyah & Zulkarnain, (2021), Gejala umum *tuberkulosis* adalah sebagai berikut: Berat badan turun selama tiga bulan berturut turut tanpa sebab yang jelas :

a. Demam meriang lebih dari sebulan;
b. Batuk lebih dari dua minggu, batuk ini bersifat nonremitting (tidak pernah reda atau intensitas semakin lama semakin lama semakin parah)
c. Dada terasa nyeri
d. Sesak napas
e. Nafsu makan tidak ada atau berkurang
f. Mudah lesu atau malaise

Pengobatan *tuberkulosis* terbagi menjadi 2 fase yaitu fase intensif (2-3 bulan) dan fase lanjutan selama 4 atau 7 bulan. Prinsip utama pengobatan tuberkulosis adalah patuh untuk meminum obat selama jangka waktu yang diberikan oleh dokter, hal ini dianjurkan agar bakteri penyebab penyakit tuberkulosis tidak menjadi kebal terhadap obat-obatan yang diberikan. Paduan obat yang digunakan adalah paduan obat utama dan obat tambahan. Jenis obat utama (lini I) adalah *INH, rifamfisin, pirazinamid, streptomisisin, etambutol*, sedangkan obat tambahan lainnya

adalah: *kanamisin, amikasin, kuinolon* Kualitas hidup pasien tuberkulosis yang menjalani pengobatan dipengaruhi oleh kondisi fisik yang dialami, tekanan emosional, dukungan sosial yang diperoleh dari keluarga maupun orang sekitar, serta lingkungan yang mendukung pasien dalam menjalani hidup (Mar'iyah & Zulkarnain, 2021).

C. Tinjauan Umum Respon Imun

Respon imun terhadap *tuberculosis* terkait erat dengan respon imun dari inang (*host*). Pada sebagian besar inang, invasi patogen TB akan direspon secara adekuat oleh sistem imun, membatasi pertumbuhan bakteri, dan mencegah terjadinya infeksi. Secara paradoks, sebagian besar kerusakan jaringan yang ditimbulkan pada infeksi TB justru berasal dari respon imun inang, misalnya pada kejadian nekrosis perkijuan dan kavitas yang khas dilihat pada paru pasien TB. Pada pasien dengan sistem imun yang inadekuat, misalnya pada pasien HIV, dapat menghasilkan tanda dan gejala yang atipikal. Pada pasien TB-HIV, penampakan kavitas biasanya tidak dijumpai pada foto toraks. Meskipun demikian, meskipun tidak atau sedikit dijumpai kerusakan jaringan akibat respon imun inang pada pasien TB-HIV, rendahnya respon imun mengakibatkan bakteri TB lebih mudah berproliferasi dan menyebar (Isbaniah dkk., 2021).

Tidak semua orang yang terpajan dengan patogen TB akan berkembang menjadi penyakit TB. Secara skematis, persentase orang terpajan TB yang akan berkembang menjadi penyakit TB (Isbaniah dkk., 2021).

Sekitar 30% dari orang yang terpajan terhadap kuman TB akan terinfeksi

dengan TB. Dari pasien yang terinfeksi TB, sekitar 3-10% akan berkembang menjadi TB aktif dalam 1 tahun pertama setelah infeksi. Setelah 1 tahun, sekitar 3-5 % pasien dengan TB laten akan berkembang menjadi TB aktif, sisanya akan tetap memiliki TB laten sepanjang hidup (Isbaniah dkk., 2021).

D. Tinjauan Umum Etambutol

1. Definisi Etambutol

Etambutol hidroklorida merupakan golongan antimikroba bakteriostatik yang digunakan sebagai obat anti tuberkulosis (OAT) sejak tahun 1960an. Etambutol bekerja menghambat *arabinosil transferase* yang memerantai *polimerasi arabinose* menjadi *arabinogalactan* dan *lipoarabinomannan* pada dinding sel *Mycobacterium tuberkulosis* (Sundari dkk., 2020).

Toksisitas okular berupa neuropati optik seringkali dilaporkan sebagai efek samping pada penggunaan etambutol. Mekanisme terjadinya masih belum diketahui tetapi diduga karena adanya efek *zinc-chelating* dari etambutol (Josephina & Walandow, 2014)

Resistensi bakteri *Mycobacterium tuberculosis* terhadap OAT adalah keadaan ketika bakteri tidak dapat dibunuh dengan OAT. Resistensi obat pada TB bukan hanya disebabkan oleh pengobatan yang tidak adekuat atau gagal, namun juga disebabkan oleh munculnya strain resisten yang ditransmisikan oleh penderita MDR-TB. Strain yang resisten muncul akibat adanya perubahan atau mutasi pada gen-gen tertentu dalam genom *Mycobacterium tuberculosis*. Gen-gen ini

merupakan target dari mekanisme kerja OAT (Siregar, 2019).

Mekanisme ini merupakan bentuk pertahanan terhadap infeksi namun tidak dapat mengeradikasi infeksi. Apabila terjadi penurunan sistem imun dan proses penuaan, maka infeksi dapat teraktivasi. Resistensi alamiah terhadap banyak antibiotika merupakan salah satu keunikan yang dimiliki oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Resistensi ini terjadi akibat adanya dinding sel yang sangat hidrofobik dan berperan sebagai barrier permeabilitas (Siregar, 2019).

2. Mekanisme resistensi terhadap etambutol

Etambutol pertama kali diperkenalkan sebagai obat anti-TB pada tahun 1966 dan menjadi bagian dari regimen lini pertama OAT. Etambutol bersifat bakteriostatik terhadap multiplikasi basil yang mengganggu biosintesis *arabinogalactan* di dinding sel. Pada *Mycobacterium tuberculosis*, gen *embCAB*, berperan sebagai operon, kode untuk *transferase arabinosyl*, yang terlibat dalam sintesis *arabinogalactan*, untuk menghasilkan akumulasi intermediate *d-arabinofuranosyl-P-decaprenol* (Siregar, 2019).

Mekanisme resistensi etambutol diketahui terkait dengan adanya mutasi pada gen *embB.* Mutasi pada *embB kodon* 306 (embB306) menjadi yang paling umum pada kebanyakan penelitian. Berbagai penelitian telah mengidentifikasi adanya 5 mutasi pada kodon 306 (ATG), yaitu ATG GTG/CTG/ATA, ATC dan ATT. Akibatnya metionin (ATG) diganti oleh valin, leusin atau isoleusin (Siregar, 2019).

Beberapa penelitian juga menemukan adanya mutasi di posisi *embB306* pada isolat sensitif etambutol. Bahkan, penelitian dengan jumlah isolat *Mycobacterium tuberculosis* yang lebih banyak menemukan bahwa mutasi pada *embB306* tidak selalu terkait dengan resistensi etambutol tetapi terkait kecenderungan untuk mengembangkan resistensi terhadap peningkatan jumlah obat-obatan (Irianti & Kuswandi, 2016).

3. Patogenesis Resisten Obat Anti Tuberculosis (OAT)

Target utama ethambutol tidak secara langsung memicu reaksi imun tetapi dapat mempengaruhi sistem imun *etambutol* dengan terganggunya sintesis dinding sel mikroba (*Mycobacterium tuberculosis*) dengan cara mempengaruhi enzim *arabinosyl transferase*. *Arabinosyl transferase* merupakan enzim yang berperan langsung dalam pembentukan *arabinan* yang merupakan salah satu komponen *arabinogalaktan* pada dinding sel *Mycobacterium tuberculosis.* Aktivitas Etambutol menyebabkan terjadi gangguan sintesis *arabinogalaktan* sehingga menyebabkan tidak terbentuknya ikatan komplek *mycolyl-arabinogalactan-peptidoglycan* pada dinding sel. Hal ini menyebabkan peningkatan permeabilitas dinding sel sehingga senyawa aktif obat lebih mudah memasuki sel. Selain itu menyebabkan terjadi penumpukan asam mikolat di dalam sel sehingga menyebabkan kematian sel (Hasanah, 2016).

Mekanisme resistensi obat anti tuberkulosis terjadi melalui dua mekanisme utama yaitu resistensi obat primer (resistensi yang terjadi pada pasien baru yang tertular dan terinfeksi pasien resisten obat) dan resistensi

obat sekunder (resistensi yang terjadi pada pasien yang pernah diobati sebelumnya yang mengalami mutasi strain resisten obat pasien resistensi obat primer dapat tertular melalui *aerosol* dan jarang melalui cara lain seperti dari makan makanan yang terkontaminasi bakteri atau inokulasi bakteri ke permukaan mukosa (misalnya melalui laboratorium atau yang lainnya), atau saat transplantasi organ padat/solid (hepar dan limpa) dan sum-sum tulang (Indrasari & Fathana, 2024).

Resistensi obat sekunder didapat karena pasien tidak patuh terhadap pengobatan, malabsorbsi OAT (*rifampisin* diminum setelah makan), dan regimen pengobatan yang tidak memadai mekanisme terjadinya resistensi terhadap obat anti tuberkulosis yang memiliki riwayat pengobatan tuberkulosis adalah adanya mutasi pada gen yang mengkode target obat atau enzim pengaktif obat. Mekanisme mutasi gen setiap obat, yaitu Etambutol terjadi mutasi pada gen *embB* yang mengkode *enzim arabinosyl transferase* yang berperan dalam sintesis *arabinogalactan*. Mekanisme kerja etambutol bermultiplikasi basil yang mengganggu *biosintesis arabinogalactan* di dinding sel sehingga bersifat bakteriostatik (Indrasari & Fathana, 2024).

4. Efek Samping Etambutol

Neuropati optic menjadi efek toksik *etambutol* yang paling sering terjadi Neuropati optis seperti neuritis optis atau *retrobulbar neuritis* memilikisatu atau lebih karakteristik berikut, yaitu penurunan ketajaman penglihatan, *scotoma*, kebutaan warna dan/atau kerusakan penglihatan.

Kejadian tersebut juga telah dilaporkan ketika pasien tidak memiliki diagnosis neuritis optis ataupun *retrobulbar neuritis.* Oleh karena itu, pasien perlu dinasehati agar segera melapor kepada dokter atau apoteker jika mengalami. Selain itu, hepatotoksisitas juga telah dilaporkan. Oleh karena itu, penilaian fungsi hati secara *baseline* dan periodik sebaiknya dilakukan selama terapi. Efek samping lain dari *EMB* adalah pruritus, nyeri sendi, *gastrointestinal upset*, nyeri perut, malaise, sakit kepala, pusing, kebingungan, disorientasi dan halusinasi juga mungkin terjadi (Irianti & Kuswandi, 2016).

Neuropati optis dan *hepatotoksisitas* kadang-kadang dapat dialami oleh pasien akibat penggunaan obat ini. Konsentrasi di atas 10 μg/mL dapat memperburuk penglihatan. Efek ini mungkin berhubungan dengan dosis dan durasi terapi. Namun, efek samping tersebut bersifat *reversibel* (akan kembali normal setelah pemberian obat dihentikan). Pada beberapa kasus, pemulihan dapat tertunda hingga 1 tahun atau lebih. Kebutaan *irreversible* juga telah dilaporkan (Irianti & Kuswandi, 2016).

E. Tinjauan Umum Gen *embB*

Resistensi terhadap *EMB* telah dikaitkan dengan mutasi yang didapat dalam kelompok *emb* dari tiga gen yang berdekatan yang disebut *embC, embA,* dan *embB.* Gen *embA* dan *embB* mengkode *arabinosiltransferase* yang terlibat dalam *arabinosilasi arabinogalactan,* sementara *embC* terlibat dalam *arabinosilasi lipoarabinomannan*. Beberapa penelitian telah mengidentifikasi mutasi pada kodon 306 *embB* sebagai perubahan yang paling umum pada isolat

yang resistan terhadap *EMB* (Cuevas-Córdoba *et al*., 2015).

EMB menghambat *arabinosiltransferase,* yang dikodekan oleh operon *embCAB,* sehingga menghambat *biosintesis* sel komponen sumur *arabinogalactan* dan *lipoarabinomannan*. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa mutasi pada gen *embB* terutama diamati pada isolat klinis yang resistan terhadap *EMB*. berbagai mutasi *embB,* mutasi pada kodon 306 adalah yang paling mutasi titik yang umum dideteksi yang memberikan resistensi *EMB* yang telah di sarankan sebagai indikator molekuler penting untuk deteksi cepat isolat *Mycobacterium tuberculosis* yang resistan terhadap *EMB*. Berbagai penelitian telah mengidentifikasi adanya 5 mutasi pada kodon 306 (ATG), yaitu ATG GTG/CTG/ATA, ATC dan ATT. Akibatnya metionin (ATG) diganti oleh valin, leusin atau isoleusin (Zhang *et al*., 2014).

Mutasi yang sangat mempengaruhi fenotip resistensi terhadap etambutol terjadi pada gen *embB20*. Gen *embB* memiliki asam amino metionin pada posisi kodon 306. Susunan ini bersifat lestari atau *conserved* pada M. *tuberculosis, M. smegmatis, M. avium dan M. leprae*. Mutasi titik yang mengakibatkan subtitusi asam amino *Metionin* pada posisi 306 ditemukan pada sebagian besar kasus resistensi etambutol. Hal inilah yang mendasari penggunalin mutasi kodon 306 sebagai marker resistensi (Rinanda, 2015)

Menurut (oktry yosi dkk., 2024) adap un Faktor-faktor penyebab mutasi gen yaitu:

1. Mutasi spontan : Mutasi spontan terjadi secara alami tanpa adanya faktor eksternal yang memicunya. Misalnya, kesalahan saat replikasi DNA saat

sel membelah diri secara normal. Mutasi spontan ini dapat terjadi secara acak dan secara alami dalam populasi organisme.

2. Subtitusi : Subtitusi dikenal sebagai mutasi point, terjadi ketika satu basa nirogen dalam urutan DNA digantikan oleh basa nitrogen yang berbeda. Subtitusi dapat terjadi dalam beberapa bentuk, termasuk penggantian basa nitrogen dengan basa nitrogen yang serupa (misalnya, pergantian adenin dengan guanin) atau penggantian basa nitrogen yang berbeda (misalnya, pergantian adenin dengan timin).
3. Mutasi genetik pada enzim dapat menyebabkan berkurangnya aktivitas enzim, yang dapat berdampak pada berbagai fungsi sel dan bahkan menyebabkan penyakit. Mutasi genetik pada enzim dapat menyebabkan berkurangnya aktivitasnya. Mutasi ini terjadi akibat perubahan pada urutan nukleotida DNA yang mengkode enzim, yang bisa disebabkan oleh faktor-faktor seperti kesalahan replikasi DNA, paparan radiasi, dan paparan bahan kimia.

F. Tinjauan Umum PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

PCR dikembangkan pada tahun 1984 oleh seorang biokimiawan bernama Karya Mullis. PCR atau reaksi berantai polimerase adalah suatu metode enzimatis dalam bidang biologi molekuler yang bertujuan untuk melipatgandakan secara eksponensial suatu sekuen nukleotida tertentu dengan jumlah kelipatan ribuan hingga jutaan salinan secara in vitro. Ketika awal perkembangannya, metode ini hanya digunakan sebagai metode untuk melipatgandakan DNA. Kemudian, metode ini dikembangkan untuk

melipatgandakan dan melakukan kuantitasi molekul mRNA (Feranisa, 2016). *Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan reaksi amplifikasi atau perbanyakan DNA secara in vitro dengan memanfaatkan cara replikasi DNA menggunakan bantuan enzim DNA polimerase dan perubahan sifat fisik DNA terhadap suhu. *Polymerase Chain Reaction* merupakan metode yang sangat sensitif sehingga dengan hanya satu molekul DNA dapat diperbanyak dua kali lipat dalam satu kali siklus suhu (Maksum *et al.*, 2019).

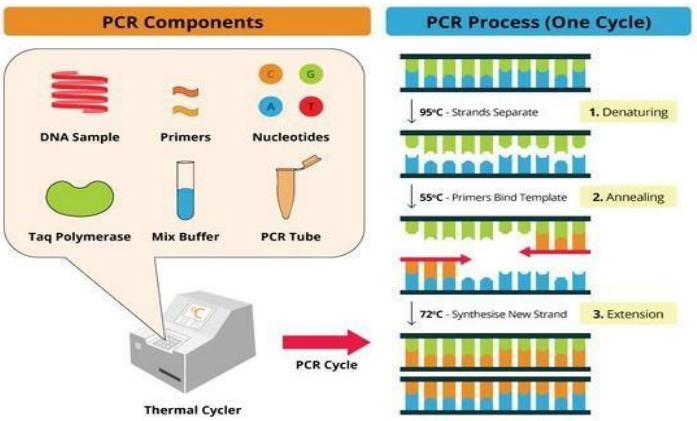
Pada Gambar 2.4 proses PCR diperlukan beberapa komponen utama, yaitu:

1. Template DNA, adalah fragmen DNA yang akan dilipatgandakan Templat DNA yang digunakan harus mengandung 105–106 molekul kemurnian dan kuntitas adalah dua karakteristik cetakan yang penting.
2. *Oligonukleotida* Primer, adalah suatu sekuen *oligonukleotida* pendek (18-28 basa nukleotida) yang digunakan untuk mengawali sintesis rantai DNA dan memiliki kandungan G + C sebanyak 50–60%.
3. *Deoksiribonukleotida Trifosfat* (dNTP), terdiri dari dATP, dCTP, dGTP, dTTP. dNTP untuk mengikat ion Mg2+ yang dapat mengubah konsentrasi efektif ion untuk reaksi polimerasi.
4. Enzim DNA *Taq Polimerase*, adalah enzim yang melakukan katalisis reaksi sintesis rantai DNA. *Enzim Taq Polimerase* diperoleh dari Eubacterium yang disebut Thermus aquaticus, spesies ini diisolasi dari taman *Yellowstone* pada tahun 1969. *Enzim Taq Polimerase* tahan terhadap pemanasan berulang yang akan membantu melepas ikatan primer yang tidak tepat serta meluruskan wilayah yang mempunyai struktur sekunder.

5. Senyawa pendukung lainnya yaitu senyawa buffer. Larutan buffer PCR umumnya mengandung 50 mM KCl, gelatin 0,1% atau BSA (*Bovine Serum Albumin*), 10-50 mM Tris-HCl dengan pH 8,3-8,8 (suhu 20 ºC), Tween 20 sebanyak 0,01% atau dapat diganti dengan Triton X-100 sebanyak 0,1%, dan disamping itu diperlukan tambahan 1,5 mM MgCl2.

Menurut Feranisa (2016), Pada gambar 2.4 ada tiga tahapan penting dalam proses PCR yang selalu terulang dalam 30 – 40 siklus dan berlangsung dengan cepat :

1. *Denaturasi* (Pemisahan DNA) Tahap denaturasi merupakan tahapan pemisahan kedua untai DNA pada temperatur tinggi. DNA akan terdenaturasi pada temperatur 90 hingga 97ºC. Pada teknik PCR, denaturasi optimum terjadi pada temperatur 95ºC selama 30 detik.
2. *Annealing* (Penempelan primer) Tahap *annealing* yaitu tahap penempelan primer pada pita DNA yang sesuai, pada suhu 55ºC hingga 60ºC selama 30 detik.
3. *Extention* (Pemanjangan Primer) Tahap *extention* oleh enzim DNA polimerase pada suhu 72ºC dalam waktu yang disesuaikan dengan panjang atau pendeknya ukuran DNA yang diharapkan sebagai produk amplifikasi. Umumnya, waktu yang digunakan untuk *extention* DNA pada PCR yaitu



Gambar 2.4 Komponen dan Tahapan PCR
(Kusnadi & Ayumingtyas, 2020)

DNA mitokondria memiliki sifat yang menjadikannya karakteristik yang baik untuk dipelajari, analisis PCR menggunakan DNA ini telah sering digunakan. Sedikit jumlah DNA atau DNA yang mudah dihancurkan dapat dianalisis menggunakan DNA mitokondria karena jumlah salinan DNA nya yang tinggi. Salah satu metode yang sering digunakan untuk pemeriksaan hasil PCR setelah selesai adalah elektroforesis (Shofa *et al*., 2019).

G. Tinjauan Umum *Sequencing*

Sekuensing DNA adalah teknik yang digunakan untuk mengurutkan seluruh nukleotida dalam DNA atau gen, yang juga mencakup pengurutan asam amino secara cepat dan akurat. Secara umum, proses sekuensing DNA meliputi beberapa tahap, yaitu persiapan DNA template, reaksi annealing, reaksi sekuensing, dan reaksi terminasi. Hasil dari proses ini dapat digunakan untuk menganalisis kesamaan urutan nukleotida DNA antar berbagai organisme (Shofa et al., 2019). Tujuan utama dari sekuensing DNA adalah untuk mengidentifikasi urutan basa nitrogen, yaitu adenin, guanin, sitosin, dan

timin, dalam sampel DNA. Salah satu penerapan penting dari teknologi ini adalah dalam proyek *Human Genome Project*, yang bertujuan untuk mengurutkan genom manusia. Di bidang medis, sekuensing DNA sangat bermanfaat untuk identifikasi, diagnosis, dan pengembangan terapi penyakit genetik. Pengembangan metode sekuensing DNA dimulai pada tahun 1970 dengan penggunaan teknik kromatografi, yang kemudian diikuti oleh metode sekuensing berbasis pewarna (Tasma, 2015).

Teknologi sekuensing generasi kedua, atau yang dikenal sebagai *Next Generation Sequencing* (NGS), mencakup berbagai teknik sekuensing selain metode Sanger yang telah dibahas sebelumnya. NGS memiliki potensi besar untuk menurunkan biaya sekuensing. Prinsip dasar pengembangan mesin NGS terinspirasi dari metode sekuensing shotgun (Mastur *et al*., 2019).

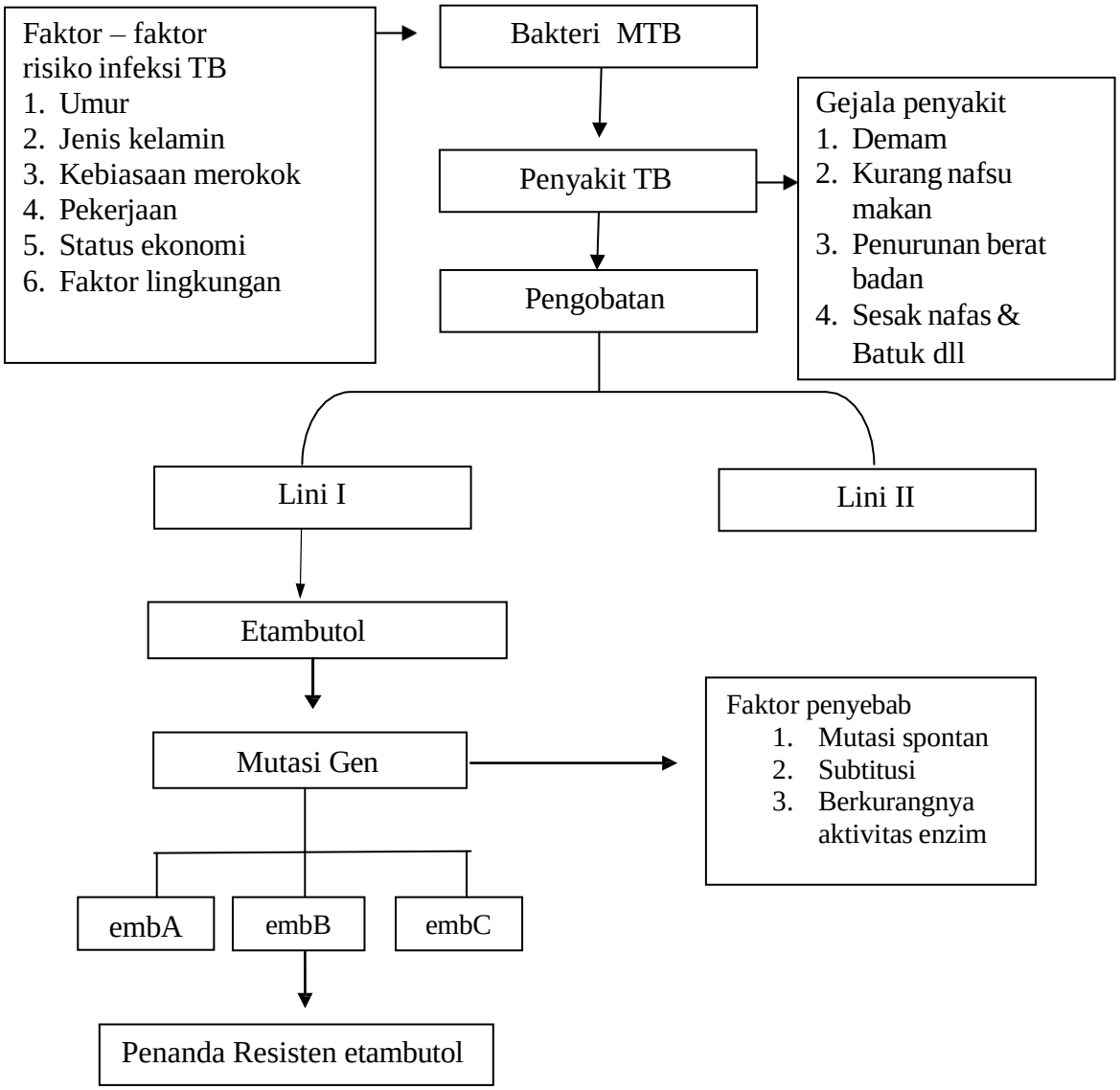
Metode sekuensing pertama, dikenal sebagai *first generation sequencing*, adalah metode Sanger (*Sanger dideoxy sequencing*). Metode ini membutuhkan DNA template serta primer yang spesifik dalam reaksi sekuensing. Teknologi Sanger dan modifikasinya menjadi dominan dalam dunia sekuensing selama lebih dari 30 tahun (Kluesner *et al*., 2018).

Selain alat sekuensing generasi kedua, kini juga tersedia alat sekuensing generasi ketiga. Alat ini mampu mensekuen molekul DNA atau RNA secara individu. Beberapa contoh termasuk *HeliScop*e, *Ion Torrent*, SMRT (*Single Molecule Real-Time Sequencing*), dan *Oxford Nanopore*. Keunggulan utama dari alat-alat ini adalah kemampuannya dalam membaca urutan dari molekul tunggal, yang berarti kebutuhan untuk materi awal sangat sedikit (kurang dari 1

µg) DNA atau RNA, dan tidak memerlukan amplifikasi PCR, sehingga mengurangi potensi kesalahan yang diakibatkan oleh amplifikasi PCR (Mastur *et al*., 2019).

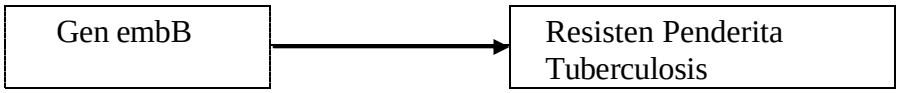
Akurasi keseluruhan metode Sanger sequencing mencapai 99,95%, yang berarti tingkat kesalahan hanya 0,05%. Dengan panjang baca berkisar antara 800 hingga 1000 pasangan basa, kedua aspek ini menjadikan *Sanger sequencing* sebagai standar emas dalam sekuensing (Thermo Fisher Scientific, 2015). Data yang dihasilkan dari proses ini berbentuk elektroferogram, di mana setiap nukleotida diwakili oleh warna yang berbeda: *Adenin* (A) berwarna hijau, *Guanin* (G) berwarna hitam, *Timin* (T) berwarna merah, dan *Sitosin* (C) berwarna biru (Mawaddah *et al*., 2021).

H. Kerangka Teori



Gambar 2.5 Kerangka Teori

I. Kerangka Konsep



Keterangan

: Variabel Independen

: Variabel Dependen

Gambar 2.6 Kerangka Konsep

J. Definisi Operasional

1. Tuberkulosis (TBC) adalah penyakit infeksi yang di sebabkan oleh kuman *Mycobacterium tuberkulosis* yang menyeraang paru-paru dan bronkus.
2. *Mycobacterium tuberculosis* adalah bakteri gram positif yang bersifat aerob obligat, yang dapat menyebabkan penyakit tuberculosis.
3. Isolat adalah proses mengambil bakteri dari medium atau lingkungan asalnya lalu menumbuhkannya di medium buatan sehingga diperoleh biakan yang murni.
4. Resistensi adalah dimana antibiotik tidak sensitive lagi pada pasien.
5. *Etambutol* adalah obat anti tuberculosis yang digunakan dalam pengobatan infeksi yang di sebabkan oleh *Mycobacterium tuberkulosis*. Obat ini bekerja dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri.
6. Mutasi gen adalah perubahan kimiawi pada satu atau beberapa pasangan basa dalam satu gen tunggal yang menyebabkan perubahan sifat individu tanpa perubahan jumlah dan susunan kromosomnya.

7. Gen *embB* adalah gen yang mengkode *arabinosil transferase* yang terlibat dalam *arabinosilasi arabinogalactan*, komponen dinding sel bakteri. Mutasi pada gen ini dapat menyebabkan resistensi terhadap *etambutol*.
8. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah suatu metode enzimatis untuk ampilifikasi DNA atau perbanyakan DNA dengan cara in vitro. *Sequencing* adalah suatu teknik atau metode pengurutan semua nukleotida DNA atau gen, termasuk pengurutan asam amino yang dikodekan secara tepat dan cepat.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian observasi laboratorium dengan desain *cross sectional study.*

B. Lokasi dan waktu penelitian

1. Lokasi Penelitian

   Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium *Hasanuddin University Medical-Research Center* (HUM-RC) Makassar.

2. Waktu Penelitian

   Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Juni 2025.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

   Populasi sampel dalam penelitian ini adalah isolat pasien TB yang tersimpan di Laboratorium Mikrobiologi *Hasanudin University Medical Research Center* (HUM-RC).

2. Sampel

   Sampel dalam penelitian ini adalah isolat penderita TB yang tersimpan di Lab Mikrobiologi *Hasanuddin University Medical Research Center (HUM-RC)*

3. Teknik pengumpulan

   Pengumpulan sampel isolat dengan menggunakan (*accidental sampling)* yang disesuaikan dengan kriteria inklusi sebanyak 14 sampel.

D. Kriteria penelitian

Adapun kriteria sampel pada penelitian ini :

1. Kriteria Inklusi
   a. Isolat klinis tahun 2025
   b. Isolat TB dengan riwayat etambutol
2. Kriteria eksklusi
   a. Tidak terdapat pada data

E. Alat dan Bahan

1. Alat

   Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah neraca analitik, mikropipet, mikrosentrifuse, vortex, *microwave*, freezer, kulkas, gelas ukur, rak tabung *Eppendorf*, UV Gel dock, tangka larutan penyangga elektroda, chamber elektroforesis, sisir cetakan, cetakan gel agarose, *geldoc transluminator*, alat PCR, *laminar air flow*, sentrifuse mini.

2. Bahan

   Sedangkan bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu isolate *Mycobacterium tuberculosis*, kit ekstraksi (GENEID), bubuk gel agarose *molekuler grade*, *etidium bromide* (EtBr), larutan *buffer Tris Borate* EDTA (TBE), marker DNA, DNA leader, filter tip, tabung mikrosentrifuse 1,5, tabung Eppendorf, tabung spin column, cetakan hasil isolasi, *enzim taq polymerase*, dNTPs (*deoxynucleosida trifosfat*) sebagai sumber nukleotida, Bu ffer PCR (MgCl), *Nuclease free water* (NFW), *marker, Proteinase K, Buffer GSB, Etanol Absolute, Wash Buffer, W1*

Buffe, Elution buffer, dan, primer embB 929bp

Forward (5’’CACGCTGAAACTGCTGGCGATC 3’’)

Reserve (5’GTAACGCAGGTTCTCGGTATAC’3)

F. Prosedur Kerja

Deteksi *Gen embB* pada *Mycobacterium tuberkulosis*

1. Ekstraksi DNA

   Sampel isolat Tb diekstraksi sesuai protocol DNA kit. Dalam proses ekstraksi DNA tahapan pertama yang dilakukan yaitu pelisisan sel, dimana dipipet sebanyak 200 µl sampel dimasukkan ke dalam tabung mikro centrifuge 1,5 ml steril lalu ditambahkan 20 µl *proteinase* K lalu vortex selama 10 detik kemudian inkubasi selama 5 menit pada suhu 60 ^{o}C kemudian tambahkan 200 µl *buffer* GSB lalu *vortex* dan inkubasi kembali selama 2 menit pada suhu 60 ^{o}C setelah itu tambahkan *etanol absolute* sebanyak 200 µl dan *vortex* selama 10 detik. Tahapan yang kedua yaitu pengikatan DNA (DNA binding), pertama-tama dipindahkan semua sampel kedalam tube *spin column* lalu sentrifuge selama 1 menit dengan kecepatan 14.000 rpm kemudian buang *collection tube* yang berada dibagian bawah *spin column* lalu pipet sisa sampel dan pindahkan ke dalam tube yang baru. Tahapan yang ketiga yaitu pencucian (*wash*), dilakukan dengan menambahkan 400 µl W1 *buffer* ke dalam tube lalu sentrifuge selama 1 menit dengan kecepatan 14.000 rpm, buang endapannya dan tambahkan kembali W1 *buffer* sebanyak 600 µl, sentrifuge selama 30 detik dengan kecepatan 14.000 rpm lalu buang cairan pada *collection tube* dan sentrifuge

kembali selama 3 menit dengan kecepatan 14.000 rpm lalu buang *collection tube* dan letakkan tabung *eppendorf* baru pada bagian bawah *spin column* dan pipet sisa sampel. Tahapan yang terakhir yaitu *elution*, pertama pipet *elution buffer* sebanyak 100 µl kemudian diamkan selama 3 menit lalu sentifuge selama 30 detik dengan kecepatan 14.000 rpm. Hasil *ekstraksi* disimpan pada lemari es dengan suhu -4 ^{o}C untuk digunakan sebagai template PCR.

2. Amplifikasi PCR

Hasil ekstraksi DNA kemudian diamplifikasi menggunakan campuran rekasi PCR yang terdiri dari : *Taq DNA Polymerase* 100 µl, Primer *forward* dan primer *reserve* 8 µl kemudian tambahkan masing-masing 44 µl *nuclease free water* kemudian di *vortex* selama 5 detik dan dipipet masing-masing-masing 10 µl ke tabung PCR dan tambahkan masing-masing 5 µl template DNA hasil ekstraksi kedalam tabung PCR kemudian di *spin down*. Selanjutnya dimasukkan tabung yang berisi sampel dan PCR mix kedalam alat PCR *Thermocycler.* Reaksi PCR memiliki 35 siklus yang terdiri dari *predenaturasi* 95 ^{o}C selama 2 menit yang diikuti oleh *denaturasi* 95 ^{o}C selam 15 detik, *anneling* 55 ^{o}C selama 30 detik dan tahap *ekstension* 72 ^{o}C selama 30 detik dan *post ekstension* pada suhu 72 ^{o}C selama 7 menit.

Tabel 3.1. Perhitungan Mix PCR (deteksi gen embB)

Komponen PCR	Volume /sampel	Volume /sampel
Enzim PCR	6,25 µl/sampel	x 16 = 100
Nuklease free water	2,75 µl/sampel	x 16 = 44
Primer F	0,5 µl/sampel	x 16 = 8
Primer R	0,5 µl/sampel	x 16 = 8
Total	15 µl/sampel	170 µl

Sumber : (Sundari., 2020).

3. **Elektroforesis**

Hasil amplifikasi kemudian di elektroforesis disiapkan *gel agarose* 1,5% yang dibuat 1,5 gram *agarose* yang dicampur 100 ml TBE (*Tris Borate EDTA)* lalu Homogenkan dan setelah itu dipanaskan dengan *microwave* selama 3 menit dengan suhu 450 ^{o}C kemudian keluarkan dari microwave dan dipipet *Etidium Bromida* (EtBr) sebanyak 3 µl dan homogenkan lalu dituang ke dalam pencetak gel yang telah dipasangkan sisiran dan tunggu 1 jam hingga mengeras. Dimasukkan *gel agarose* ke dalam *chamber* elektroforesis yang berisi larutan *buffer* TBE 0,5 ke dalam chamber sampai tanda batas maksimal dan pipet ladder marker ke dalam sumur pertama sebanyak 5 µl lalu pipet control negative ke dalam sumur ke dua sebanyak 5 µl lalu pipet masing-masing sampel DNA sebanyak 5 µl ke dalam sumur ketiga sampai sumur empat belas.

Setelah itu tutup chamber dan atur arus listrik 100 *volt* selama 45 menit dengan kuat arus 400 mA. Lalu tekan tanda "RUN" selanjutnya setelah proses elektroforesis selesai gel diangkat lalu dibaca dengan alat visualisasi *BIO-Rad Geldoc UV Transiluminator*.

4. ***Sequencing***

Produk PCR yang telah terkonfirmasi keberadaan *gen embB* dari masing-masing sampel kemudian dikirim untuk dilakukan sequencing di Lab 15Tbase Malaysia dengan menggunakan primer forward sequencing searah. Hasil *sequencing* diperoleh dalam bentuk *file sequens*/urutan DNA berformat AB1.

5. **Pembacaan Hasil *Sequencing***

Pada software bioedit dibuka file sequens DNA patokan dalam format fasta yang telah didownload dari gen bank NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). Diimport 8 file hasil sequencing dalam format AB1 sehingga squens DNA dari 8 sampel ditampilkan tepat dibawah sequens DNA patokan. Dilakukan running program *ClustalW* pada menu *Accessory Aplication* untuk menyelaraskan semua sequens hasil sequencing sampel dan sequens DNA patokan. Setelah diselaraskan, dicari perubahan/substitusi basa yang terjadi dengan menggunakan *fitur View conservation by plotting identities to a standart as a dot.* Fitur ini akan membuat sequens basa dari DNA patokan tetap ditampilkan keseluruhannya, sedangkan sequens basa dari ke-8 hasil sequencing ditampilkan sebagai beriikut; basa nukleotida yang tidak terjadi perubahan (berada pada keadaan standar) akan ditampilkan sebagai titik, untuk basa yang terdeteksi mengalami perubahan akan ditunjukan basa nukleotidanya sehingga dapat dibandingkan dengan basa nukleotida pada sequen DNA patokan dan dikeatahui perubahan basa yang terjadi.

G. Interprestasi Hasil

Data hasil dari laboratorium berupa hasil foto pembacaan elektroforesis gel agarose pada alat *gell doc* dan hasil pembacaan hasil sequencing dengan bantuan software bioedit. Sampel dinyatakan positif terdapat *gen embB* jika terbentuk pita DNA di sepanjang area target yaitu 929 bp, sedangkan untuk sampel yang tidak terbentuk pita DNA akan dinyatakan sebagai hasil negatif. Untuk pembacaan hasil *sequencing*, dinyatakan terjadi mutasi pada sampel apabila terdapat substitusi/perubahan basa pada sequens/urutan DNA.

H. Teknik Analisa Data

Data dari hasil uji laboratorium ini akan disajikan dalam bentuk table dan gambar menggunakan pendekatan secara deskriptif.

I. Etika Penelitian

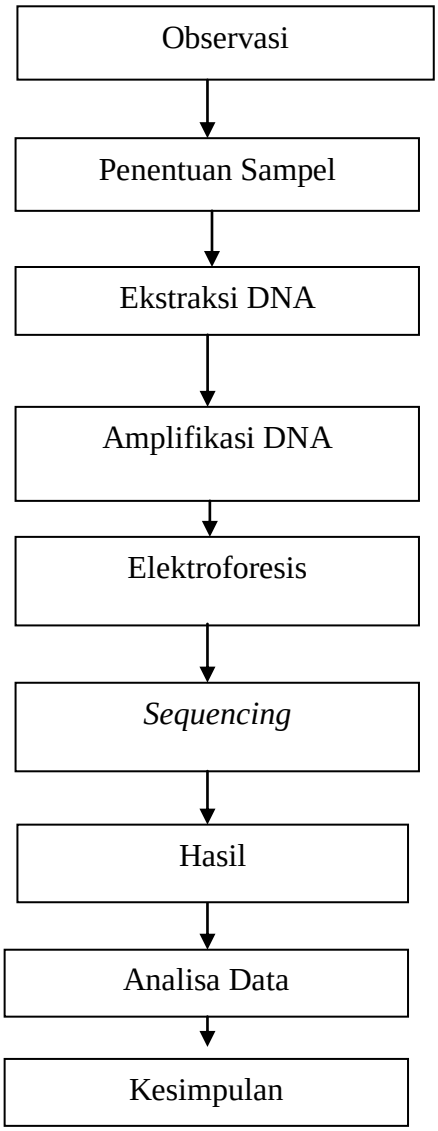
Etika penelitian merupakan masalah yang sangat penting dalam penelitian, mengingat penelitian ini berhubungan dengan manusia, maka segi etika penelitian harus diperhatikan. Masalah etika yang harus diperhatikan antara lain :

1. *Infomed consent* (Penjelasan dan Persetujuan), Lembaran persetujuan ini diberikan kepada responden yang akan diteliti dan memenuhi kriteria peneliti. Bila subjek menolak maka peneliti tidak akan memaksakan kehendak dan tetap menghormati hak-hak subjek.
2. *Anonymity* (Tanpa nama), Dalam penelitian ini akan dijamin kerahasiaan data dari para responden dengan cara tidak memberikan atau mencantumkan nama responden pada lembar kuisioner dan hanya

menuliskan kode pada lembar pengumpulan data atau hasil penelitian yang akan disajikan.

3. *Confidentiality* (Kerahasiaan), Memberikan jaminan kerahasiaan hasil penelitian, baik informasi maupun masalah-masalah lainnya. Semua informasi yang telah dikumpulkan dijamin kerahasiaannya oleh peneliti hanya kelompok data tertentu yang akan dilaporkan pada hasil riset.

J. Alur Penelitian



Gambar 3.1 Bagan Alur Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Deteksi mutasi *gen embB* pada isolat Mtb dengan metode *Polymeraase Chain Reaction (PCR-Sequencing)* telah dilakukan pada bulan juli 2025 di *Hasanuddin University Medical Research Center* (HUM-RC) Makassar. Sampel yang di gunakan dalam penelitian ini adalah sampel berupa isolate di HUM-RC Makassar. Deteksi gen embB dilakukan dengan menggunakan *PCR-Sequencing*

1. Karakteristik Subjek Penelitian

   Penelitian ini bersifat observasi laboratorium dengan menggunakan desain penelitian accidental sampling yaitu dengan menganalisis gen embB pada penderita tuberculosis menggunakan metode PCR-Sequencing. Sampel yang di gunakan pada penelitian ini adalah sampel isolat tuberculosis sebanyak 14 sampel serta control negatif 1 isolat.

2. Karakteristik Sampel Penelitian Pada Isolat MTB

Tabel 4.1 Jenis Pengobatan Antibiotik

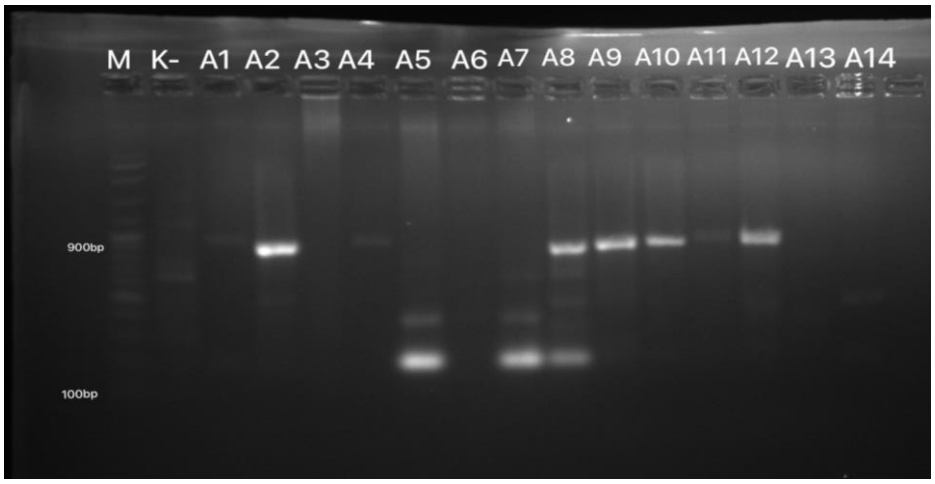
No	Inisial pasien	Umur	Jenis kelamin	Jenis terapi
1	Tn. D	19 Tahun	L	OAT Lini I
2	Tn.A.S	55 Tahun	L	OAT Lini I
3	Tn. U.T	65 Tahun	L	OAT Lini I
4	Tn. A	25 Tahun	L	OAT Lini I
5	Tn. P.B	56 Tahun	L	OAT Lini I
6	Ny. S.L	48 Tahun	P	OAT Lini I
7	Ny.A.I	44 Tahun	P	OAT Lini I
8	Ny. A.M	38 Tahun	P	OAT Lini I
9	Tn. A.A	55 Tahun	L	OAT Lini I
10	Tn. S	29 Tahun	L	OAT Lini I
11	Ny. H.A	35 Tahun	P	OAT Lini I
12	Ny. S.N	41 Tahun	P	OAT Lini I
13	Tn. A.R	50 Tahun	L	OAT Lini I
14	Tn. F.F	53 Tahun	L	OAT Lini I

Sumber : Data Primer 2025

Karakteristik sampel penelitian pada isolate MTb berdasarkan Tabel 4.1 subjek dalam penelitian ini dibuat berdassarkan jenis pengobatan antibiotic yang dikonsumsi. Semua isolat yang digunakan dalam penelitian iniberasal dari pasien TB positif yang sedang menjalankan terapi OAT lini 1 di antaranya etambutol dalam hal ini dapat dipastikan bahwasannya lama pengobatan pasien tersebut masih menjalani terapi OAT.

3. Hasil *Polymerase Chain Reaction (*PCR)

Pada pemeriksaan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) menggunakan primer spesifik gen embB dengan target 929 bp yang kemudian divisualisasikan melalui elektroforesis seperti pada gambar 4.1



Gambar 4.2 Hasil Visualisasi *Gen embB*

Keterangan :

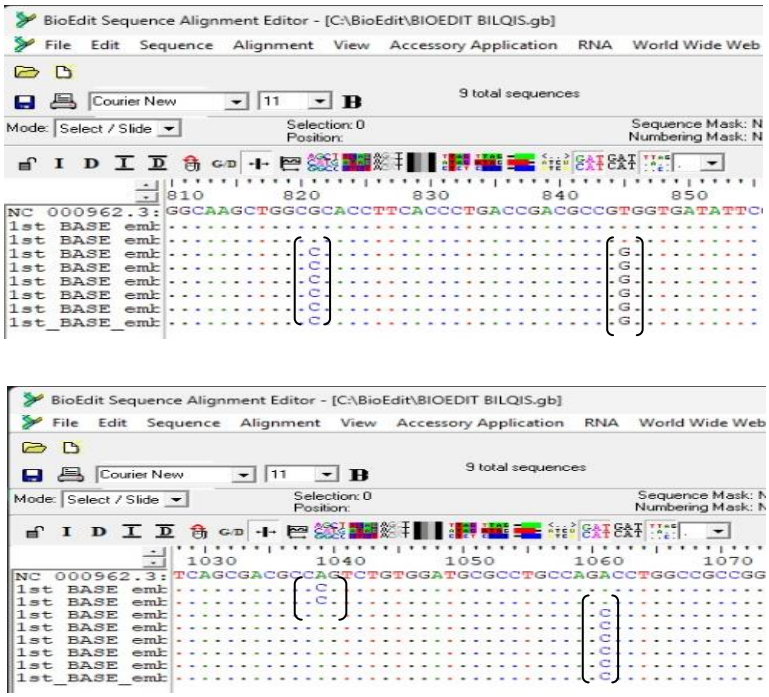
K- : Kontrol Negatif
M : Marker
A1-14 : Sampel isolat
929 bp : Target

Hasil visualisasi elektroforesis produk PCR dengan primer spesifik dari gen embB seperti yang terlihat pada gambar 4.1 menunjukan keberadaan gen embB pada sampel A1, A2, A4, A8, A9, A10, A11, A12 yang di tandai yang di tandai positif dengan terbentuknya pita DNA dibawah gel doct dari empat belas sampel pada target 929 bp. Sedangkan sampel A3,A5,A6,A7,A13, dan A14, di dapatkan hasil yang negative karena tidak terdapat visualisasi pita DNA yang muncul pada target 929 bp. Sehingga terdapat adanya mutasi gen embB yang resisten terhadap etambutol. Pada pita band yang terdapat pada A5, A7, A8, merupakan

unspesific band yang terbentuk pita band.

4. Hasil *Sequencing*

Pada pemeriksaan *sequencing* yang bertujuan untuk mencari adanya perubahan pada sequens DNA Gen embB dengan menggunakan software bioedit, diperoleh hasil seperti pada gambar 4.3



Gambar 4.3 Perbandingan sequens DNA Patokan dengan Sequens DNA Hasil *Sequencing* delapan Sampel.

Hasil yang terlihat setelah analisis menggunakan *sofwart bioedit* menunujukan adanya substitusi/perubahan struktur basa nukleotida pada sequens DNA gen embB, dimana pada 821 bp Guanin (G) tersubtitusi menjadi (C) Citosin dan 845 bp Timin (T) tersubtitusi menjadi (G) Guanin terdapat pada kode sampel 3 sampai 8, dan 1039 bp (A) Adenin tersubtitusi menjadi (C) Citosin pada sampel 1 dan 2, 1061 bp (A) Adenin tersubtitusi menjadi (C) Citosin terdapat pada kode sampel 3 sampai 8. Yang menunujukan adanya mutasi.

B. Pembahasan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di Laboratorium *Hasanuddin University Medical Cent*er (HUM-RC), mulai tanggal 24 juni sampai 25 juni, sampel yang digunakan adalah sampel isolat penderita tuberkulosis yang menjalani terapi OAT jenis *etambutol* yang tersimpan dilaboratorium *Hasanudin University Medical Research Center* (HUM-RC) dengan jumlah sampel yang memenuhi kriteria sebanyak 14 sampel menggunakan *PCR- Sequencing*.

Pada penelitian ini menggunakan isolat yang telah diproses mulai dari pengambilan sampel klinis dari pasien yang memenuhi kriteria inklusi. Sampel yang diambil berupa dahak pasien atau spesimen lainnya. Setelah pengambilan, sampel segera dikirim ke laboratorium dengan kondisi yang sesuai untuk menjaga viabilitas mikroorganisme. Setibanya dilaboratorium, sampel diproses sesuai dengan prosedur standar, termasuk dilakukan preparasi pada media kultur selektif maupun diferensial. Lalu koloni yang tumbuh pada media kemudian diambil dan diamati menggunakan PCR. PCR merupakan teknik yang diketahui sangat cepat dan efektif dalam menunjang diagnosis khususnya untuk pasien TB yang sedang dalam tahap pengobatan. Sebelum melakukan penelitian menggunakan PCR, sampel yang digunakan harus diestraksi terlebih dahulu untuk mendapatkan DNA template yang kemudian digunakan dalam proses PCR. Proses selanjutnya yaitu amplikasi dimana suhu yang digunakan sangat berperan dalam proses penempelan primer. Selanjutnya proses elektroforesis dimana hasil elektroforesis yang

terlihat adalah terbentuknya band yang merupakan fragmen DNA hasil amplifikasi dan menunjukkan potongan-potongan jumlah pasangan basanya terakhir hasil elektroforesis akan divisualisasikan dengan menggunakan UV transluminator.

Berdasarkan Tabel 4.1 yang menampilkan karakteristik subjek penelitian diketahui bahwa: Mayoritas subjek penelitian adalah laki-laki yaitu sebanyak 9 dari 14 orang, Sedangkan perempuan sebanyak 5 dari 14 orang. Menurut (Sunarmi and Kurniawaty.,2022), *Mycobacterium tuberculosis* lebih banyak meyerang laki-laki daripada wanita. Penyakit tuberkulosis paru cenderung lebih tinggi pada laki-laki dibandingkan perempuan. Laki-laki mempunyai beban kerja yang berat serta gaya hidup yang tidak sehat seperti merokok dan alkohol. Perempuan lebih memperhatikan kesehatannya dibanding laki-laki, oleh karena itu perempuan lebih jarang terserang penyakit TB Paru. Perempuan lebih banyak melapor kangejala penyakitnya dan berkonsultasi dengan dokter

Usia mayoritas subjek penelitian adalah diatas 40 tahun yaitu sebanyak 9 dari 14 orang, termasuk diantaranya dengan 8 sampe yang telah terdeteksi terjadi mutasi gen embB. Penderita TB paru paling banyak umur 40-55 tahun (usia produktif) karena pada usia ini orang menghabiskan waktu dan tenaga untuk bekerja dimana tenaga banyak terkuras, berkurangnya waktu istirahat sehingga membuat daya tahan tubuh menurun sedangkan pada kelompok tidak menderita TB paru paling banyak umur 40-55 tahun. Berdasarkan dari hasil penelitian dan teori yang ada serta terkait, maka peneliti berpendapat

bahwa ada hubungan yang bermakna antara umur dengan kejadian TB Paru (Sunarmi & Kurniawaty., 2022).

Semua subjek penelitian ini adalah penderita tuberkulosis dengan kategori pasien TB yang mengonsumsi OAT, Pada hasil elektroforesis produk PCR (Gambar 4.2) pada sampel A1, A2, A4, A8, A9, A10, A11,A12, ditemukan keberadaan gen embB pada target 929bp yang resisten terhadap etambutol sedangkan pada sampel A3,A5,AA6,A7,A13,A14 tidak di temukan keberadaan gen embB pada target 929 bp. Dari total 14 sampel yang dianalisa menggunakan teknologi molekuler PCR, didapatkan hasil bahwa 8 sampel diantaranya diketahui telah resisten terhadap antibiotik etambutol. Hal ini dapat terjadi karena delapan hal yaitu penderita mengalami resistensi terhadap obat anti *tuberkulosis* yang terjadi secara primer dimana penderita belum pernah mendapat pengobatan tetapi telah mengalami resistensi obat akibat tertular oleh strain bakteri yang telah mengalami resistensi. selain itu, proses resistensi obat juga dapat dikarenakan penderita yang telah mendapat pengobatan akan tetapi strain bakteri telah mengalami perubahan. Selain dua hal tersebut, masih banyak lagi penyebab penderita mengalami resistensi obat (Nurhajri dkk., 2022).

Sedangkan sampel yang tidak mengalami mutasi (*Wild Type*) menandakan bahwa sampel tersebut tidak mengalami resistensi terhadap antibiotik jenis *etambutol* yang dapat disebabkan oleh beberapa faktor salah satu diantaranya yaitu pengobatan yang telah diberikan sudah adekuat dan sesuai standar. Hal ini erat kaitannya dengan patomekanisme resistensi yang

menandakan semua aktivitas enzim, proses metabolisme, dan efektivitas antibiotik pada *Mycobacterium tuberculosis* sudah berjalan sesuai dengan fungsi dan peran dari antibiotik itu sendiri.

Resistensi ini terjadi dimana antibiotik yang digunakan sudah tidak mampu lagi melawan kuman penyebab penyakit. Hal tersebut dikarenakan pada saat antibiotik diberikan, kuman penyebab penyakit telah mengalami mutasi. Antibiotik *etambutol* tidak dapat bekerja sendiri, obat ini memerlukan obat yang lain sehingga dapat bekerja secara menyeluruh dalam membunuh kuman. Antibiotik etambutol sendiri bekerja dalam menghambat kinerja *enzim arabinosyl transferase* yaitu suatu enzim yang berperan dalam pembentukan dinding sel bakteri *Mycobacterium tuberculosis* sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan permeabilitas pada dinding sel dan membuat obat-obat yang lain dapat masuk. Mutasi pada gen ini dapat menyebabkan resistensi terhadap *etambutol* sehingga protein yang dihasilkan berubah sehingga obat tidak lagi efektif, etambutol bekerja dengan cara menghambat enzim tersebut dengan efektif (Nurhajri dkk., 2022).

Etambutol merupakan turunan *ethylenediamine* yang larut air dan aktif hanya pada mycobakteria. *Etambutol* ini bekerja sebagai bakteriostatik pada dosis standar. Mekanisme utamanya dengan menghambat enzim *arabinosyltransferase* yang memperantarai *polymerase arabinose* menjadi *arabinogalactan* yang berada di dalam dinding sel.

Resistensi ethambutol pada *M.tuberculosis* paling sering berkaitan dengan mutasi *missense* pada gen *embB* yang menjadi sandi untuk

arabinosyltransferase. Mutasi ini telah ditemukan pada 70% *strain* yang resisten dan keterlibatan pengganti asam amino pada posisi 306 atau 406 pada sekitar 90% kasus.

Adapun dampak mengkonsumsi etambutol sehingga terjadinya resistensi dapat menyebabkan gangguan penglihatan berupa penurunan ketajaman penglihatan dan buta warna merah dan hijau. Namun gangguan penglihatan tersebut tergantung pada dosis yang dipakai, sangat jarang terjadi pada penggunaan dosis 15-25 mg/kg BB perhari atau 30 mg/kg BB yang diberikan 3 kali seminggu. Gangguan penglihatan akan kembali normal dalam beberapa minggu setelah obat dihentikan. Sebaiknya *etambutol* tidak diberikan pada anak karena risiko kerusakan saraf okuler sulit untuk dideteksi, terutama pada anak yang kurang kooperatif (Isbaniah dkk.,2021). Toksisitas okular berupa neuropati optik seringkali dilaporkan sebagai efek samping pada penggunaan *etambutol.*1,3-5 Mekanisme terjadinya masih belum diketahui tetapi diduga karena adanya efek *zinc-chelating* dari *etambutol* (Irianti & Kuswandi .,2016).

Berdasarkan pembacaan hasil *sequencing* dengan *software bioedit*, diketahui bahwa sampel dengan kode sampel 1 sampai 8 merupakan sampel dengan perubahan struktur basa *nukleotida* (Mutasi) gen embB resisten *etambutol* penderita TB yang sedang mengkonsumsi obat antibiotik sejak lama. Mutasi *missense* dapat mengubah struktur protein/aktifitas. Perubahan basa nukleotida dari (G) *Guanin* menjadi (C) *Sitosin* dan (T) *Timin* menjadi (G) *Guanin*, dan (A) *Adenin* menjadi (C) *Sitosin*, dan (A) *Adenin* menjadi (G)

Guanin, yaitu mutasi subtitusi *transversion* pergantian *purin* menjadi *pirimidin* begitu pun sebaliknya. Adanya perbedaan mutasi pada 4 empat kodon terjadi perubahan sehingga dapat mengubah asam amino yang dikodekan. Perubahan pada kodon menyebabkan perubahan sifat asam amino dari asam aspartat yang bersifat polar dan asam menjadi tirosin yang bersifat polar dan netral. Perubahan pada kodon juga mengubah sifat asam amino yaitu dari glutamin yang bersifat polar dan netral menjadi arginin yang bersifat polar dan basa mutasi pada kodon yang merupakan mutasi yang umum terjadi, dengan angka kejadian yang sedikit bervariasi.

Mutasi gen yang mengarah ke perubahan kode genetik, bisa terjadi pada kodogen (DNA) / bisa juga pada kodon (*triplet*) pada RNA dari urutan kode basa nitrogennya, sehingga membawa kesalahan terbentuknya asam amino, akibat kesalahan terbentuknya asam amino ini membawa dampak ke kesalahan terbentuknya protein, kesalahan terbentuknya enzim karena komponen penyusunnya protein.

Perubahan asam amino pada kodon 306 merupakan yang paling sering terjadi dan terjadi pada 8 (100%) isolat (yaitu, pada Substitusi yang dihasilkan dari transisi G→C pada posisi *nukleotida* 821 terdeteksi pada kode sampel 3,4,5,6,7, 8 isolat resisten embB dan 2 isolat rentan embB, sementara substitusi, yang disebabkan oleh transisi T→G pada posisi *nukleotida* 850, masing-masing terdeteksi pada kode sampel 3,4,5,6,7,8 isolat resisten dan 2 isolat rentan. Perubahan asam amino yang disebabkan oleh transisi A→C pada posisi *nukleotida* 1039. Perubahan ini hanya ditemukan pada kode

sampel 1,2 isolat resisten *embB*. 6 isolat rntan, yang memiliki mutasi pada daerah yang dianalisis: A→C pada posisi 1061 perubahan yang ditemukan pada kode sampel 3,4,5,6,7,8 (Bakuba dkk., 2017).

Perubahan gen *embB* dan resistensi *EMB* mungkin berhubungan dengan efek kumulatif dari beberapa mutasi pada perkembangan resistensi *EMB*. Akuisisi resistensi terhadap *EMB* dianggap sebagai proses bertahap yang mungkin melibatkan banyak gen. Galur yang mengandung mutasi *embB* rentan terhadap *EMB* karena mutasi ini sendiri tidak cukup untuk menghasilkan resistensi *EMB* kecuali disertai dengan perubahan pada lokus genetik lainnya (Bakuba dkk., 2017).

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

Penelitian mengenai gen embB pada *mycobacterium tuberculosis* ini dapat memberikan implikasi bagi pelayanan pengobatan paru terkhususnya untuk relevansi klinis berdasarkan genetik. Mutasi *Guanin* (G) menjadi *Sitosin* (C), *Timin* (T) menjadi *Guanin* (G), *Adenin* (A) menjadi *sitosin* (C), pada *gen embB* juga berfungsi sebagai penanda genetik yang berfungsi sebagai penanda resisten OAT dalam diagnosis dan prognosis TB.

Penelitian deteksi mutasi gen *embB* bagi masyarakat pada penelitian

ini dengan mengetahui adanya mutasi gen embB yang menyebabkan resistensi *etambutol* ini akan meningkatkan peluang kesembuhan pasien TBC dan mencegah terjadinya kegagalan pengobatan dan melakukan deteksi dini resistensi etambutol memungkinkan tindakan pencegahan penyebaran bakteri TBC resisten di masyarakat. Bagi Institusi dijadikan sebagai referensi atau artikel dalam investasi awal pelatihan, deteksi dini resistensi etambutol melalui *PCR-sequencing* dapat mengurangi biaya jangka panjang yang terkait dengan pengobatan TB yang tidak efektif yang berkepanjangan, dan penyebaran TB yang lebih luas.

Penelitian deteksi mutasi gen *embB* sebagai penanda resistensi etambutol pada *Mycobacterium tuberculosis* menggunakan *PCR-Sequencing* memiliki beberapa keterbatasan. Keterbatasan tersebut meliputi potensi munculnya variasi genetik di luar daerah target, kesalahan dalam proses amplifikasi dan *sequencing*, serta kesulitan dalam interpretasi data hasil *sequencing*. Selain itu, biaya yang relatif mahal dan waktu yang dibutuhkan untuk melakukan *PCR-Sequencing* juga menjadi kendala.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa adanya mutasi pada *gen embB* sebanyak 8 sampel pada target 929 bp, dan terjadi subtitusi/perubahan struktur basa *nukleotida* pada *sequens* DNA ke 8 sampel tersebut pada target yang berbeda.

B. Saran

Diharapkan untuk penelitian lanjutan mengenai penentuan daerah konservatif terjadinya mutasi penyebab resistensi pada *Mycobacterium tuberculosis* dapat dilakukan menggunakan isolat yang lebih banyak untuk mendapatkan database yang lebih lengkap.

DAFTAR PUSTAKA

Angria, N., Djaharuddin, I., Ladju, Rusdina Btei, M. N. M., & Oslan Jumadi , Ahyar Ahmad H Arif Santoso, H. H. A. B. U. A. M. S. (2022). *Ekspresi miRNA-29a-3p dan IFN-ÿ sebagai biomarker pada tuberkulosis paru aktif dan laten*. *83*(September), 4–9.

Clin, I. J., Med, E., Zhang, H., Chen, X., Wang, Z., & Ren, Z. (2015). *Artikel Asli Analisis pyrosequencing untuk mutasi pada embB kodon306 di antara isolat klinis mycobacterium tuberculosis dari Qingdao , Cina*. *8*(7), 11276–11282.

Cuevas-Córdoba, B., Juárez-Eusebio, D. M., Almaraz-Velasco, R., Muñiz- Salazar, R., Laniado-Laborin, R., & Zenteno-Cuevas, R. (2015). Mutation at embB codon 306, a potential marker for the identification of multidrug resistance associated with ethambutol in Mycobacterium tuberculosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *59*(9), 5455–5462.

Dewi Utary, Fachrudi Hanafi, S. (2020). Deteksi Mutasi Gen Emb Sebagai Sifat Resistensi Primer First Line Oral Agents Etambutol Pada Pasien TB Paru BTA + Di Wilayah Kerja Puskesmas Kabupaten Lombok Timur Dewi. *Jurnal Kedokteran*, *6*(01), 147–154.

Fathiyah Isbaniah, Erlina Burhan, Bintang YM Sinaga, Dewi Behtri Yanifitri, Diah Handayani, Harsini, Heidy Agustin, I Nengah Artika, Jatu Aphridasari, Rohani Lasmaria, Russilawati, S. Y. J. R. S. (2021). Tuberkulosis Pedoman Diagnosis dan Penatalaksanaan di Indonesia. In *Perhimpunan Dokter Paru Indonesia* (Vol. 001, Issue 2014).

Febriani, A., Sijid, S. A., Hidayat, K. S., Muthiadin, C., & Zulkarnain, Z. (2022). Gambaran hasil pemeriksaan mikroskopik basil tahan asam pada penderita tuberkulosis paru di BBKPM Makassar. *Filogeni: Jurnal Mahasiswa Biologi*, *2*(1), 21–26.

Feranisa, A. (2016). Komparasi Antara *Polymerase Chain Reaction* (Pcr) Dan Lopmediated Isot Hermal Ampilification (Lamp) Dalam Diagnosis molekuler. *Odonto Dental Jurnal*, 3(2), 145.

Gordon, S. V, & Parish, T. (2018). Profil Mikroba: Mycobacterium tuberkulosis: Musuh mikroba yang mematikan bagi umat manusia. *Microbiology*, *164*(4), 437–439.

Hasanah, N. (2016). Perempuan Dewasa Rawat Jalan Di Rumah Sakit Islam Asshobirin Kharisma Persada Tanggerang Selatan, 1-9.

Indrasari, A. D., & Fathana, P. B. (2024). Studi Literatur : Patogenesis Dan Diagnosis Tuberkulosis Resisten Obat. *Jurnal Medika Malahayati*, *8*(1), 162–169.

Josephina, S. M., & Walandow, D. (2014). Neuropati Optik Bilateral Pasca Terapi Etambutol. *Jurnal Biomedik (Jbm)*, *5*(1), 58–63.

Khusnul, M., & Zulkarnain (2021). Patofisiologi penyakit infeksi tuberkulosis .*Alauddin*, *6*(18), 79–82.

Kluesner, M. G., Nedveck, D. A., Lahr, W. S., Garbe, J. R., Abrahante, J. E., Webber, B. R., & Moriarity, B. S. (2018). *EditR : A Method to Quantify Base Editing from Sanger Sequencing*. *1*(3), 239–250.

Maksum, I. P., Sriwidodo, Gaffar, S., Hassan, K., Subroto, T., & Soetisojo Soemitro. (2019). Buku Teknik Biologi Molekular. In *Alqaprint* (Issue September).

Meliasari. (2021). Terapi Tuberkulosis. *Jurnal Medika Hutama*, *03*(01), 1571–1575.

Novieta A. N., Edy Kurniawan, I., N., M., (2022). Deteksi Resistensi Mycobacterium Tuberculosis terhadap Antibiotik Etambutol dengan Teknik Polymerase Chain Reaction (PCR). *Media of Medical Laboratory Science*, *6*(1), 16–22.

Nurdin., Maisyarah., Citra D., A., Desi O., M., S., (2022). Rendahnya Pengobatan Tbc Di UPT Puskesmas Salimpaung Kabupaten Tanah Datar. *Empowering Society Journal*, *3*(3), 237–244.

Oktri Yosi, Theodora Mega Putri, zaqiya Darajat, Fitriani, Ratna Lestari, Saiful Bahri, Dian Palupi, Risa Purnamasari. (2024). Genetika Dasar. CV Gita Lentera. Sumatera Barat

Rinanda, T. (2015). Kajian Molekuler Mekanisme Resistensi. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, *15*(3), 162–167.

Rismayanti, Muh. Arman Nyomba, Aliyyah Ansariadi, & Alika Tasya Devana. (2023). Analisis Determinan Tuberculosis di Kota Makassar. *Media Publikasi Promosi Kesehatan Indonesia (MPPKI)*, *6*(2), 290–295.

Sari, G. K., Sarifuddin, & Setyawati, T. (2022). Tuberkulosis Paru Post Wodec Pleural Efusion: Laporan Kasus Pulmonary Tuberculosis Post Wodec Pleural Effusion: Case Report. *Jurnal Medical Profession*, *4*(2), 174–182.

Sejati, A., & Sofiana, L. (2015). Faktor-Faktor Terjadinya Tuberkulosis. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, *10*(2), 122.

Shofa, A. F., Hariyanti, H., & Wahyudi, P. (2019). Penggunaan DNA Mitokondria Sebagai Penanda Sumber Gelatin Sediaan Gummy dengan Teknik Polymerase Chain Reaction dan Sekuensing DNA. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, *6*(1), 7.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Penelitian Dari Penanaman Modal PTSP

PEMERINTAH PROVINSI SULAWESI SELATAN
DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU SATU PINTU
Jl.Bougenville No.5 Telp. (0411) 441077 Fax. (0411) 448936
Website : http://simap-new.sulselprov.go.id Email : ptsp@sulselprov.go.id
Makassar 90231

Nomor	: **10102/S.01/PTSP/2025**	**Kepada Yth.**
Lampiran	: -	Rektor Univ. Hasanuddin Makassar
Perihal	: **Izin penelitian**	
		di-
		Tempat

Berdasarkan surat Kepala LPPM Univ. Megarezky Makassar Nomor : 1510/07.091056/V/2025 tanggal 08 Mei 2025 perihal tersebut diatas, mahasiswa/peneliti dibawah ini:

N a m a	: **RATU BILQIS ILAHI S**
Nomor Pokok	: B1D121163
Program Studi	: Teknologi Laboratorium Medis
Pekerjaan/Lembaga	: Mahasiswa (D4)
Alamat	: Jl. Antang Raya No. 43, Makassar

onptsp
PROVINSI SULAWESI SELATAN

Bermaksud untuk melakukan penelitian di daerah/kantor saudara dalam rangka menyusun KARYA TULIS, dengan judul :

" DETEKSI MUTASI GEN embB SEBAGAI PENANDA RESISTEN ETAMBUTOL TERHADAP ISOLAT Mycobacterium tuberculosis MENGGUNAKAN PCR-SEQUENSING "

Yang akan dilaksanakan dari : Tgl. ***15 Mei s/d 30 Juni 2025***

Sehubungan dengan hal tersebut diatas, pada prinsipnya kami ***menyetujui*** kegiatan dimaksud dengan ketentuan yang tertera di belakang surat izin penelitian.

Demikian Surat Keterangan ini diberikan agar dipergunakan sebagaimana mestinya.

Diterbitkan di Makassar
Pada Tanggal 15 Mei 2025

KEPALA DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU SATU PINTU PROVINSI SULAWESI SELATAN

ASRUL SANI, S.H., M.Si.
Pangkat : PEMBINA TINGKAT I
Nip : 19750321 200312 1 008

Tembusan Yth
1. Kepala LPPM Univ. Megarezky Makassar di Makassar;
2. *Peninggal.*

Lampiran 2 Kode Etik

Kementerian Kesehatan
Direktorat Jenderal
Sumber Daya Manusia Kesehatan
Politeknik Kesehatan Makassar
Jalan Wijaya Kusuma Raya No. 46 Banta-Bantaeng
Makassar, Sulawesi Selatan 90222
08115566606
https://portal.poltekkes-mks.ac.id

KETERANGAN LAYAK ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL EXEMPTION
"ETHICAL EXEMPTION"
No.: 1299M/KEPK-PTKMS/VI/2025

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The research protocol proposed by

Peneliti Utama : **Ratu Bilqis Ilahi S**
Principal in Investigator

Nama Institusi : **Universitas Megaresky Makassar**
Name of the Institution

Dengan Judul:
Title

"Deteksi Mutasi Gen embB Sebagai Penanda Resisten Etambutol Terhadap Isolat Mycobacterium Tuberculosis Menggunakan PCR - Sequencing"

"Detection of embB Gene Mutations as a Marker of Ethambutol Resistance to Mycobacterium Tuberculosis Isolates Using PCR - Sequencinge"

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Layak Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 12 Juni 2025 sampai dengan tanggal 12 Juni 2026.

Declaration of ethics applies during the period June 12, 2025 until June 12, 2026.

June 12, 2025
Professor and Chairperson,

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
POLTEKKES MAKASSAR

Hj. Santi Sinala, S.Si, M.Si, Apt
Ketua KEPK Poltekkes Makassar

Lampiran 3 Selesai Meneliti

HUM-RC	ADMINISTRASI	FORMULIR 1
	Nomor : 211/05/FR1/2025	Tanggal : 26 Mei 2025
SURAT PENGANTAR PENELITIAN		

Kepada Yth.
Pembimbing/pendamping,
Ibu Nur Samsi,

Dengan ini menerangkan bahwa peneliti/mahasiswa berikut ini :

Nama : Ratu Bilqis Ilahi S
NIM : B1D121163
Institusi : DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky

Akan melakukan pengambilan data/ analisa bahan hayati :

Pada tanggal : 26 Mei 2025 s/d Selesai
Jumlah subjek : ± 14 Sampel Isolate TB
Jenis data : Data Primer

Untuk penelitian dengan judul :
"Deteksi Mutasi Gen Embb Sebagai Penanda Resisten Etambutol Terhadap Mycobacterium Tuberculosis Menggunakan PCR Sequencing."

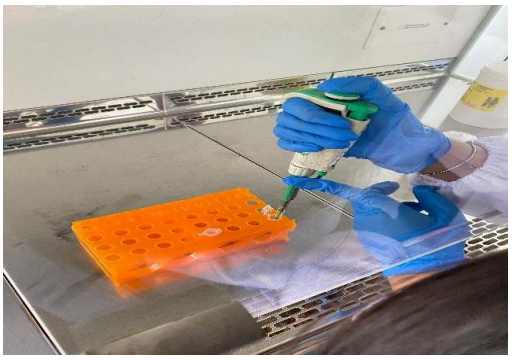
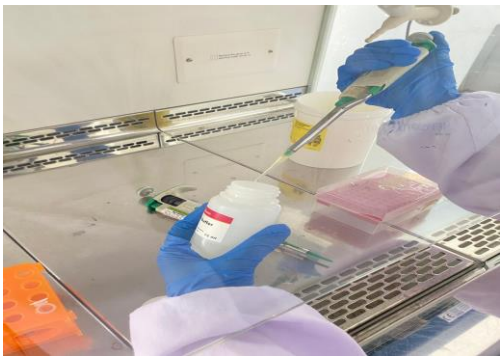
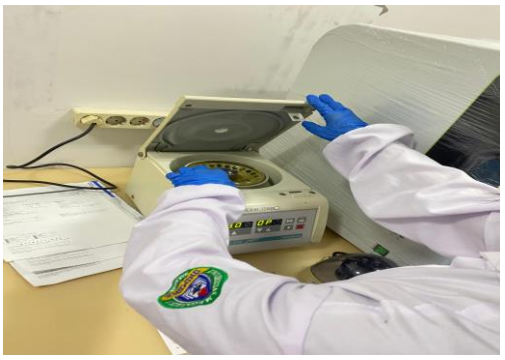
Harap dilakukan pembimbingan dan pendampingan seperlunya. Terima Kasih.

Staf Administrasi,

HUM-RC

Catatan : Untuk *Guide Services*, Proses pengerjaan dilakukan oleh peneliti, Pendamping hanya mendampingi.

Lampiran 4 Dokumentasi

Tahapan Ekstraksi	
	
	
Tahapan *Polymerase Chain Reaction*	
	





Elektroforesis







Proses pembacaan hasil *sequencing* pada *software bioedit*

