

ARTIKEL PENELITIAN

**Hubungan Kepatuhan Pasien Tuberkulosis Paru Mengonsumsi Isoniazid Selama Pengobatan Obat Anti Tuberkulosis dengan Mutasi Gen katG Ser315thr (G944c) *Mycobacterium Tuberculosis***

**Mara Imam Taufiq Siregar<sup>1</sup>, Amira Permatasari Tarigan<sup>2</sup>, Datten Bangun<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Departemen Farmakologi FKIK UNJA, <sup>2</sup>Departemen Ilmu Penyakit Paru FK USU, <sup>3</sup>Departemen Farmakologi FK USU

Email: imam.sir81@gmail.com

**Abstrak:** Mutasi pada gen *Mycobacterium tuberculosis* merupakan penyebab utama terjadinya resistensi terhadap obat anti tuberkulosis (OAT) oleh karena kadar terapi yang inadekuat akibat ketidakpatuhan selama mengonsumsi obat. Mutasi pada gen katG Ser315Thr (G944C) merupakan salah mutasi yang terjadi akibat ketidakadeguan dosis isoniazid (INH) . Penelitian kohort dilakukan terhadap 100 pasien TB paru BTA positif yang akan mulai mengonsumsi INH di Rumah Sakit Umum dr. Pirngadi Medan, yang belum mengalami mutasi gen katG Ser315Thr (G944C) *M tuberculosis*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara kepatuhan pasien TB paru mengonsumsi INH selama pengobatan OAT dengan terjadinya mutasi gen katG Ser315Thr (G944C). Kepatuhan dinilai dengan pemeriksaan metabolit INH urin metode Arkansas menggunakan Taxo urine test strip®, sedangkan mutasi gen dengan metode PCR-RFLP. Turut dinilai karakteristik sosiodemografi penderita TB paru pada penelitian ini serta hubungannya dengan kepatuhan dalam mengonsumsi INH selama pengobatan OAT. Hasil penelitian tidak dijumpai adanya mutasi gen katG Ser315Thr (G944C) *M tuberculosis*, baik pada kelompok penderita TB paru yang patuh (84%) maupun tidak patuh (16%) mengonsumsi INH (100% *wild type*). Berdasarkan karakteristik sosiodemografi, tidak dijumpai hubungan antara umur, suku, tingkat pendidikan dan jenis kelamin penderita TB paru dengan tingkat kepatuhan mengonsumsi INH selama pengobatan OAT. Simpulan, INH masih sangat sensitif untuk digunakan sebagai obat lini pertama bagi penderita TB paru yang akan mulai mendapat pengobatan OAT sampai pada bulan pertama penggunaan INH.

**Kata kunci:** *Mycobacterium tuberculosis*, mutasi gen katG Ser315Thr, PCR-RFLP, Taxo urine test strip® metode Arkansas, kepatuhan

## Relationship between Compliances of Pulmonary Tuberculosis Patients' in Taking INH during Anti-Tuberculosis Treatment with Ser315Thr katG Gene Mutation

**Abstract:** Resistance to anti-tuberculosis drugs mainly occurs due to a mutation in the genes of *Mycobacterium tuberculosis*, which can be induced by inadequate therapeutic levels of drug, mainly due to non-compliance of treatment. The inadequacy of taking isoniazid (INH) was the most frequent cause of mutation in *katG* (Ser315Thr) gene. We conducted a cohort study on 100 pulmonary tuberculosis patients with smear-positive that would be taking INH at dr. Pirngadi General Hospital Medan, all of which were not *katG* (Ser315Thr) gene mutated. This study aimed to determine the relationship between the compliances of pulmonary tuberculosis patients' in taking INH during anti-TB treatment with *KatG* (Ser315Thr) gene mutation. The compliance was assessed by examination of INH urine metabolites with Arkansas method using Taxo urine test strip<sup>®</sup>, while the gene mutation by PCR-RFLP. We also examined the sociodemographic characteristics of pulmonary tuberculosis patients and their relationships to compliance in taking INH during the anti-TB treatment. The study found no *katG* gene mutation among the compliance (84%) and non-compliance (16%) patients who took INH. There was no relationship between the characteristics of age, gender, ethnicity, and education of pulmonary tuberculosis patients with the compliances of taking INH during the anti-TB therapy. This result shows that at the first month of therapy with INH, all patients were still sensitive to the drug.

**Keywords:** *Mycobacterium tuberculosis*, *katG* (Ser315Thr) gene mutation, PCR-RFLP, Taxo urine test strip<sup>®</sup>, compliance.

### PENDAHULUAN

Penyebaran secara global strain *Mycobacterium tuberculosis* yang resisten terhadap obat anti tuberkulosis (OAT) standar saat ini menyebabkan pengendalian TB di dunia menjadi sesuatu hal yang menantang, yang pada gilirannya menimbulkan penyebaran *multi-drugs resistance tuberculosis* (MDR-TB) di dunia.<sup>1</sup> Isoniazid dan

rifampisin adalah dua obat anti TB yang paling efektif yang setidaknya dijumpai resistensinya pada kasus MDR-TB.<sup>1-3</sup>

Adanya mutasi pada gen *M tuberculosis*.<sup>2,4-7</sup> menjadi penyebab terjadinya resistensi terhadap OAT yang disebabkan karena tidak memadainya kadar terapeutik obat, terutama akibat ketidakpatuhan dalam konsumsi obat.<sup>8-10</sup> Konsumsi

obat yang tidak tepat dan tidak teratur diduga sebagai penyebab terjadinya resistensi, sehingga menimbulkan mutasi pada gen yang mengkode/menyandi target OAT, misalnya pada gen katG untuk isoniazid.<sup>11</sup>

Tuberkulosis adalah salah satu penyakit infeksi kronis yang mendemonstrasikan hubungan antara ketidakpatuhan dan resistensi secara jelas. Sebuah penelitian mengungkapkan bahwa di Baltimore Amerika Serikat antara tahun 1969 dan 1976 tercatat memiliki angka kejadian Tuberkulosis tertinggi di Amerika Serikat dibandingkan dengan kota lainnya, sehingga Pemerintah Amerika Serikat pada tahun 1978 menerapkan sistem *directly observed therapy* (DOT) yang menghasilkan angka kepatuhan terhadap pengobatan TB meningkat secara signifikan hingga mendekati angka 100 %, yang pada akhirnya pada tahun 1981 usaha tersebut membuahkan hasil dimana terjadi penurunan rata-rata kejadian TB dari 50/100.000 pertahun menjadi 36/100.000, dengan hasil yang baik ini penerapan sistem DOT di

Baltimore dilakukan dengan semakin intensif dan terus berhasil menekan angka kejadian rerata TB terus menurun yaitu 24/100.000 pada tahun 1985, 17/100.000 pada tahun 1992 dan 3.7/100.000 pada tahun 2003, hal ini pastinya disertai dengan penurunan kasus TB baru yang disebabkan oleh strain *M tuberculosis* resisten OAT.<sup>8</sup> Hal ini berkebalikan dengan daerah lainnya di Amerika Serikat dimana terjadi peningkatan angka rerata kejadian TB mencapai 20% pada tahun 1985 hingga tahun 1992. Sebagai tambahan pada tahun 1991, 33% dari keseluruhan kasus TB baru di New York disebabkan oleh strain *M tuberculosis* resisten OAT. Hal ini dapat dijadikan dasar bahwa kepatuhan penderita terhadap proses pengobatan TB menjadi sangat esensial, bukan hanya untuk mengobati penyakit tetapi juga untuk dapat mencegah terjadinya resistensi obat.<sup>12</sup>

Sebuah riset yang dilakukan oleh US Centre for Disease Control and Prevention (CDC) mengungkapkan bahwa sepertiga dari seluruh rerata angka kejadian TB di Amerika

Serikat gagal melengkapi proses pengobatannya, hal ini dikarenakan ketidakpatuhan terutama pada kalangan penderita tuna wisma dan alkoholik yang angkanya mencapai 90%. Berdasarkan data ini dapat dilihat bahwa kepatuhan masih menjadi salah satu masalah pada proses penyembuhan TB hal ini dikarenakan pengobatan yang harus dilakukan dalam jangka panjang dengan waktu minimal 6 bulan.<sup>5</sup>

Terbatasnya jumlah agen terapeutik dan dampak dari peningkatan MDR-TB maka saat ini berbagai upaya dilakukan untuk menentukan dasar resistensi *M. tuberculosis* yang ada hingga pada tingkat molekuler. Perkembangan penelitian ini menunjukkan bahwa mutasi genomik tertentu pada beberapa gen spesifik *M. tuberculosis* bertanggung jawab terhadap terjadinya resistensi agen antituberkulosis. Saat ini telah diidentifikasi sembilan mutasi gen yang bertanggung jawab terhadap resistensi OAT lini pertama. Gen-gen katG, inhA, aphC, dan kasA untuk resistensi isoniazid; rpoB untuk

resistensi rifampisin; rpsL dan rrs untuk resistensi streptomisin; EmbB untuk resistensi etambutol; dan pncA untuk resistensi pirazinamid. MDR-TB adalah akibat akumulasi dari mutasi-mutasi tersebut.<sup>2,5</sup>

Mekanisme utama resistensi INH pada *M. tuberculosis* adalah terjadinya mutasi katG, mutasi ini menyebabkan hilangnya aktivitas enzim katalase-peroksidase pada *M. tuberculosis*.<sup>13</sup> Sekitar 60-90% mutasi gen katG ditemukan pada kodon 315. Pada kodon 315 ini mutasi yang paling sering muncul adalah AGC (Serin) menjadi ACC (Treonin).<sup>2,3,7,14</sup> Pada tingkat basa, mutasi ini merupakan mutasi poin (*point mutation*) pada urutan ke-944 yaitu G menjadi C (G944C).<sup>6,7,15-18</sup> Penelitian Bostanabad et al pada tahun 2008 terhadap 163 spesimen sputum pasien dengan tuberkulosis paru aktif di Belarusia, 40 isolat adalah resisten INH akibat mutasi gen katG Ser315 secara konvensional dengan metode proporsional, dan berdasarkan metode PCR-sequencing tipe terbanyak pada isolat *M. tuberculosis* resisten INH adalah akibat mutasi

Ser315Thr (AGC→ACC) yaitu 36 isolat (85%), Ser315... (AGC→AGG) 1 isolat (2.3%), Ser31Asn (AGC→AAC) 2 isolat (4.7%) dan Ser315Gly (AGC→GGC) 1 isolat (2.3%).<sup>6</sup> Mutasi gen katG Ser315Thr (AGC→ACC) dapat menjadi marker genetik yang sangat potensial untuk menentukan strain *M tuberculosis* resisten INH.<sup>6,7</sup>

Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan terhadap hewan coba (*Macaque sp*), rerata laju mutasi (*mutation rate*) *M tuberculosis* dalam 20 jam masa regenerasinya diperkirakan terjadi sebesar  $5.5 \times 10^{-10}$  mutasi/bp/generasi.<sup>19</sup> Sedangkan hasil pada penelitian lainnya didapatkan laju mutasi *M. tuberculosis* sebesar  $2.7 \times 10^{-3}$  per-lokus pertahun, atau  $225 \times 10^{-6}$  per-lokus perbulan.<sup>20</sup> Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui hubungan antara kepatuhan pasien TB paru dalam mengkonsumsi INH selama pengobatan OAT dengan timbulnya mutasi gen katG Ser 315Thr (G944C).

## METODE

Sampel sputum yang ditampung pada pot platik dibuka kemudiam dilakukan didekontaminasi dengan larutan NaOH 5% yang bertujuan menghilangkan kontaminasi silang. Sampel dalam tabung *falcon* dihomogenkan menggunakan *vortex mixer* selama 5-20 detik, kemudian ditunggu 15 menit. Tambahkan *buffer* fosfat steril pH 6.8 selanjutnya spesimen dipekatkan dengan cara sentrifugasi 3.000x g selama 15 menit. Larutan supernatan dibuang dan resuspensi endapan dengan *buffer* fosfat hingga volume 1-3 ml. Simpan di inkubator pada suhu 37°C selama 15 menit, kemudian sampel disiapkan untuk proses ekstraksi DNA.

Ekstraksi DNA *M tuberculosis* sampel dan strain standar (H37RV) sebagai kontrol positif dilakukan dengan menggunakan Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega) dengan prosedur sesuai ketentuan pabrikan. 1 ml sampel hasil dekontaminasi dipindahkan ke tabung eppendorf 1,5ml, sentrifugasi 13.000-16.000 g selama 2 menit. Buang supernatan, ditambahkan

600µl Nuclei lysis Solution. Resuspensi dengan baik. Inkubasi 80°C selama 5 menit dan biarkan dingin sampai suhu ruangan 25°C. Tambah 3µl larutan RNase. Bolak-balikkan 2-5 kali. Inkubasi pada 37°C 15-60 menit dan biarkan sampai dingin. Tambahkan 200µl *Protein Precipitation Solution* kemudian dipusar pada *vortex* kecepatan maksimal selama 20 detik. Inkubasi pada es selama 5 menit. Sentrifus 13.000-16.000 g selama 3 menit. Transfer supernatan ke tabung eppendorf baru berisi 600µl isopropanol suhu ruangan. Bolak-balikkan sampai nampak benang putih. Sentrifugasi 13.000-16.000 g selama 2 menit lalu buang supernatan hati-hati dan keringkan tabung pada kertas tisu. Tambah 600µl etanol 70% dan dibolak-balik untuk mencuci pelet DNA. Sentrifugasi 13.000-16.000 g selama 2 menit. Hisap dan buang etanol dengan pipet otomatis perlahan dan hati-hati. Keringkan tabung pada tisu dan biarkan 10-15 menit. Tambah 50µl *DNA rehydration solution* ke tabung dan inkubasi 65°C selama 1 jam atau 4°C atau 25°C semalaman.

Simpan DNA pada 2-8°C. Sebagian dipakai sebagai bahan untuk konfirmasi dengan alat spektrofotometer serta sebagian lagi dicampur dengan *PCR mix* guna amplifikasi gen *katG M tuberculosis*.

Amplifikasi fragmen 200bp gen *katG* dilakukan di mesin *PCR/Thermocycler* dengan primer *katGF*

(5'AGCTCGTATGGCACCGGAAC 3')

dan *katGR*

(5'AACGGGTCCGGGATGGTG3')

dalam 28µl campuran PCR (12,5µl *GoTaq® Green Mastermix*, 1µl primer *KATGF*, 1µl primer *KATGR*, 5µl sampel DNA, 8,5µl *nuclease free water*) di bawah kondisi berikut (denaturasi awal pada 95°C/10 menit, 30 siklus pada suhu 94°C/1 menit; 55°C/1 menit; 72°C/1 menit dan elongasi akhir pada 72°C/4 menit).

Hasil PCR di elektroforesis pada agarosa 3%. Sejumlah 5µl 1000bp *DNA ladder* diresuspensi dengan 1µl *loading dye*. Campuran *DNA ladder-loading dye* dimasukkan pada sumur paling kiri dalam gel elektroforesis (setiap proses elektroforesis wajib memasukkan *ladder*). Untuk setiap

kontrol dan sampel, sejumlah 8-10 $\mu$ l produk PCR dimasukkan pada sumur berikutnya. Proses elektroforesis dijalankan selama 80 menit dengan tegangan 80 volt dan arus 400mA. Positif jika dijumpai fragmen pita 200bp pada agarosa.

Uji mutasi gen katG Ser315Thr (G944C) Dengan RFLP. 5 $\mu$ l ampikon PCR, 0,3 $\mu$ l enzim restriksi *MspI*, 1 $\mu$ l buffer tango 10x dan 3,7 $\mu$ l *nuclease free water* secara berurutan dimasukkan ke dalam tabung mikro kemudian diinkubasi pada suhu 37°C/24 jam (semalaman). Mutasi AGC (Ser) ke ACC (Thr) menciptakan situs *MspI* tambahan (C CGG), dengan demikian dapat dideteksi dengan menggunakan enzim restriksi endonuklease ini. Hasilnya, produk RFLP terpanjang yang diperoleh adalah 132bp untuk *M tuberculosis* mutan dan 153bp untuk *M tuberculosis wild type*. Band 10-21bp tidak akan tampak dalam gel dan tidak dipertimbangkan. DNA Produk PCR terdeteksi oleh elektroforesis gel agarosa 3% yang diwarnai dengan etidium bromida.

Dua buah sampel kontrol positif ikut disiapkan. Pertama adalah

kontrol positif *wild type* yang berasal dari DNA *M tuberculosis* sensitif INH (MTB-INH<sup>s</sup>) strain H<sub>37</sub>Rv dengan hasil elektroforesis menunjukkan pita yang jelas di 153bp. Kedua adalah kontrol positif mutan yang berasal dari DNA *M. tuberculosis* resisten INH (MTB - INH<sup>r</sup>) yang didapat dari sputum penderita MDR-TB di RSUP H Adam Malik Medan dengan hasil elektroforesis menunjukkan pita yang jelas di 132bp.

Sejumlah 5 $\mu$ l *DNA ladder* diresuspensi dengan 1 $\mu$ l *loading dye*. Campuran *DNA ladder-loading dye* dimasukkan pada sumur paling kiri dalam gel elektroforesis (setiap proses elektroforesis wajib memasukkan *ladder*). Untuk setiap kontrol/sampel, sejumlah 810 $\mu$ l produk PCR hasil restriksi enzim dimasukkan ke dalam sumur berikutnya. Proses elektroforesis dijalankan selama 80 menit dengan tegangan 80 volt dan arus 400mA. Hasilnya *wild type* terbentuk band pada 153bp dan mutan terbentuk band pada 132bp.

Pemeriksaan metabolit INH urin menggunakan Taxo urine test strip®

metode Arkansas. Remas  $\frac{1}{2}$  inci bungkus plastik Taxo urine test strip® diantara ibu jari dan telunjuk pada ujung berlawanan panah. Masukkan ujung terbuka strip Taxo ke bawah permukaan spesimen urin yang diuji. Lepaskan tekanan, spesimen urin dalam tabung harus cukup untuk menutupi tanda panah pada strip. Hasil positif bila terjadi perubahan warna pada strip menjadi biru, ungu, hijau, dan biru kehijauan. Hasil negatif bila tidak terjadi perubahan warna pada strip, atau perubahan warna selain warna hasil positif.

## HASIL

Jumlah seluruh subjek yang terlibat dalam penelitian ini berjumlah 100 orang pasien TB paru BTA positif yang akan mulai mengkonsumsi INH dengan skrining awal pemeriksaan PCR-RFLP seluruhnya belum dengan mutasi gen KatG Ser315Thr (G944C) *M. tuberculosis*. Terdiri dari 54 (54%) laki-laki dan 46 (46%) perempuan. Hasil ini sesuai dengan pernyataan WHO bahwa negara dengan angka kejadian TB paru yang tinggi seperti

Afrika Selatan dan Asia Tenggara didapatkan jumlah penderita TB paru laki-laki lebih banyak dari perempuan. Andina tahun 2012 di Rumah Sakit Umum Pusat H. Adam Malik Medan, Rumah Sakit Umum Pirngadi Medan dan di Balai Pengobatan Penyakit Paru (BP4) Medan mendapatkan pasien TB Paru laki-laki lebih banyak dari perempuan yaitu 25 (69%) dan 11 (31%).<sup>21</sup> Al-Hajjaj et al tahun 2000 di Saudi Arabia mendapatkan laki-laki 385 (61,3%) dan perempuan 243 (38,7%) dari keseluruhan 628 pasien.<sup>22</sup> Naing et al tahun 2001 di Kota Bharu Kelantan Malaysia mendapatkan laki-laki 248 (63,6%) dan perempuan 142 (36,4%) dari keseluruhan 390 orang pasien TB Paru.<sup>23</sup>

Rentang umur subyek penelitian antara 16 sampai 81 tahun. Jumlah kelompok umur 41-60 tahun didapatkan paling banyak yaitu 34 orang (34%), lebih besar 1% dari kelompok umur 21-40 tahun yang berjumlah 33 orang (33%). Al-Hajjaj et al mendapatkan kelompok umur paling banyak adalah 21-40 (52,5%) dan disusul kelompok umur 41-60

(21,8%) di tempat kedua.<sup>22</sup> Naing et al mendapatkan kelompok umur paling banyak adalah 21-40 tahun (41%) dan kelompok umur 41-60 tahun (30,2%).<sup>23</sup> Hal ini sejalan dengan pernyataan WHO dalam Global Tuberculosis Report tahun 2014 dimana insidensi TB paru paling banyak dijumpai pada usia produktif sehingga berdampak pada perekonomian mulai dari keluarga hingga negara. Insidensi ini berbeda antara negara berkembang dan negara maju, yakni kejadian TB mendominasi usia muda di negara berkembang, sedangkan di negara maju lebih banyak pada kelompok usia tua.<sup>24</sup>

Pada penelitian ini didapatkan distribusi suku subjek penelitian meliputi Aceh (2%), Batak Toba (32%), Jawa (28%), Karo (6%), Mandailing (12%), Melayu (7%), Minang (11%) dan Tionghoa (2%). Penelitian Prianty et al tahun 2012 di Pematang Siantar mendapatkan suku Batak (67,9%), Jawa (29,2%), Melayu (0,9%) dan lain-lain (2,0%). Penelitian Naing et al tahun 2001 di Kota Bharu Kelantan Malaysia mendapatkan

Melayu (94%), Tionghoa dan India (6%).<sup>23</sup> Hal ini sejalan dengan Global Tuberculosis Report tahun 2014 oleh WHO yang menyatakan bahwa TB paru adalah penyakit yang tidak mendiskriminasi ras dan suku.

Distribusi mutasi gen katG Ser315Thr (G944C) *M tuberculosis* pada sampel penelitian ini didapatkan 100% tidak bermutasi (*wild type*). Penelitian Marahatta et al tahun 2011 mendapatkan 62,2% mutan dan 37,8 *wild type*, Ahmad et al tahun 2002 mendapatkan 64,3% mutan dan 35,7% *wild type*.<sup>7,15</sup> Perbedaan distribusi mutasi yang mencolok antara penelitian ini dengan penelitian Marahatta et al dan Ahmad et al kemungkinan disebabkan oleh perbedaan asal DNA yang menjadi sampel penelitian. Mereka menggunakan sampel DNA yang berasal dari isolat *M tuberculosis* yang telah dinyatakan resisten terhadap INH dengan metode kultur (*drug susceptibility test*), sementara penelitian ini menggunakan sampel DNA yang langsung berasal dari sputum pasien TB paru BTA positif yang akan mulai mengkonsumsi INH. Selain

itu, sampel penelitian ini harus tidak dengan mutasi gen katG pada skrining awal, kemudian dinilai terjadi tidaknya mutasi setelah 1 bulan subjek mengkonsumsi INH. Sebab itu kemungkinan ditemuinya mutasi pada sampel penelitian ini akan lebih kecil dari pada penelitian Marahatta et al dan Ahmad et al.<sup>7,15</sup> Penelitian dengan menggunakan sampel DNA *M. tuberculosis* dari sputum penderita TB paru aktif dilakukan oleh Bostanabad et al tahun 2008 di Belarusia, didapatkan mutasi Ser315Thr (G944C) adalah 22% dan *wild type* 78%.<sup>6</sup> Walaupun sampel DNA *M. tuberculosis* yang digunakan Bostanabad et al berasal dari sumber yang sama dengan penelitian ini, yaitu dari sputum penderita TB paru, tetapi Bostanabad et al tidak menginklusi subjek penelitiannya hanya pada pasien TB paru BTA positif yang akan memulai konsumsi INH dan tidak dengan mutasi gen katG Ser315Thr (G944C) diawal, melainkan semua pasien TB paru aktif yang ditemui menjadi sampel penelitiannya.<sup>6</sup> Selain itu, terdapat beberapa variasi mutasi gen katG *M. tuberculosis* di kodon 315

dan pada penelitian ini hanya dilakukan pemeriksaan salah satu tipe mutasi, yaitu Ser315Thr (G944C) yang merupakan tipe mutasi terbanyak pada gen ini. Sehingga ada kemungkinan mutasi bukan terjadi pada tipe Ser315Thr (G944C) tetapi pada tipe mutasi yang lain di kodon ini.<sup>6</sup>

Berdasarkan hasil penelitian ditemukan seluruh sampel gen katG *M. tuberculosis* adalah tipe *wild type* dan distribusi kepatuhan pada subjek penelitian yaitu 84% patuh dan 16% tidak patuh. Tidak terjadi mutasi gen katG Ser315Thr (G944C) *M. tuberculosis* baik pada kelompok yang patuh maupun pada kelompok yang tidak patuh. Sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat hubungan antara tingkat kepatuhan penderita mengkonsumsi INH selama pengobatan OAT dengan terjadinya mutasi gen katG Ser315Thr (G944C) *M. tuberculosis*. Akan tetapi hal ini menunjukkan bahwa INH masih sangat sensitif untuk digunakan sebagai obat lini pertama bagi penderita TB paru yang akan mulai mendapat pengobatan OAT.

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa jenis kelamin tidak mempunyai hubungan dengan kepatuhan subjek penelitian mengkonsumsi INH selama pengobatan OAT dengan nilai  $p = 0.066$ . Sejalan dengan Naing et al yang mendapatkan tidak adanya hubungan antara jenis kelamin dan kepatuhan dalam mengkonsumsi INH selama pengobatan OAT dengan nilai  $p = 0,456$ .<sup>23</sup>

Umur tidak memiliki hubungan dengan tingkat kepatuhan pada penelitian ini, sejalan dengan studi yang dilakukan oleh Naing *et al* pada 390 pasien TB paru yang mendapat pengobatan INH menunjukkan bahwa tidak ada hubungan antara umur dengan kepatuhan pasien.<sup>23</sup> Umur tidak berpengaruh terhadap kepatuhan dalam pengobatan pasien TB paru.<sup>23,25</sup> Walaupun penelitian yang dilakukan di Arab Saudi menunjukkan adanya hubungan antara umur dengan tingkat kepatuhan, yang mana pasien dengan kelompok umur lebih tua cenderung lebih tidak patuh dibandingkan kelompok umur yang lebih muda.<sup>22</sup> Tetapi Haynes et al dan Stephenson

et al menyimpulkan dalam penelitiannya bahwa umur bukan merupakan alat ukur yang konsisten untuk memprediksi kepatuhan dalam pengobatan.<sup>26,27</sup>

Suku tidak mempunyai hubungan dengan kepatuhan penderita TB paru dalam mengkonsumsi INH pada proses pengobatan OAT. Kesimpulan ini didapat dalam penelitian ini dengan nilai  $p = 0,464$ . Sejalan dengan penelitian Naing et al yang juga tidak menemukan adanya hubungan antara suku dengan kepatuhan pasien TB paru dalam pengobatan OAT.<sup>23</sup> Jin et al dalam telaah literturnya tentang faktor – faktor yang mempengaruhi kepatuhan pasien dalam pengobatan dengan menggunakan 102 artikel dari tahun 1970 sampai 2005 menyimpulkan bahwa ras, etnik dan suku bukanlah prediktor yang baik untuk menilai kepatuhan pasien dalam pengobatan, walaupun sebagian penelitian mendapatkan ada hubungan tetapi penjelasan yang lebih masuk akal tentang ini adalah akibat rendahnya status sosio-ekonomik dan kendala bahasa yang

dimiliki suku tertentu dalam negara tempat penelitian.<sup>28</sup>

Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Suswati di Jember pada tahun 2006 yang mendapatkan bahwa tingkat pendidikan tidak mempunyai hubungan dengan kepatuhan. Kelompok subjek penelitian yang tidak bersekolah pada penelitian ini 50% patuh minum obat dan sisanya 50% tidak patuh, Suswati mendapatkan 74,23% patuh dan 25,74 tidak patuh.<sup>29</sup> Dari kelompok berpendidikan SD pada penelitian ini 60% patuh minum obat dan 40% tidak patuh, Suswati mendapatkan 72,42% patuh dan 27,58% tidak patuh. Dari kelompok berpendidikan SMP pada penelitian ini 75% patuh minum obat dan sisanya 25% tidak patuh, Suswati mendapatkan 78,38% patuh dan 21,62 tidak patuh. Dari kelompok berpendidikan SMA pada penelitian ini 87,7% patuh dan sisanya 12,3% tidak patuh, Suswati mendapatkan 86,84% patuh dan 13,16% tidak patuh. Pada kelompok Sarjana pada penelitian ini didapatkan seluruhnya (100%) patuh, Suswati mendapatkan 50% patuh dan

50% tidak patuh. Walaupun terlihat kecenderungan bahwa semakin tinggi pendidikan subjek penelitian semakin besar persentase yang patuh dan semakin kecil persentase yang tidak patuh, tetapi setelah dilakukan analisis data dengan uji Kolmogorov-Smirnov tidak didapati hubungan antara tingkat pendidikan dengan kepatuhan pada penelitian ini dengan nilai  $p=0,096$ . Juga sejalan dengan Gad et al di Alexandria Mesir yang mendapatkan tidak ada hubungan tingkat pendidikan dengan kepatuhan mengkonsumsi INH pada pengobatan OAT.<sup>30</sup> Bertentangan dengan penelitian yang dilakukan oleh Bello dan Itiola yang mendapatkan bahwa tingkat pendidikan berpengaruh dengan kepatuhan penderita TB paru dalam pengobatan OAT, mereka menyimpulkan bahwa semakin tinggi pendidikan pasien maka semakin baik pemahamannya terhadap instruksi penggunaan obat, dan ini akan meningkatkan kepatuhan.<sup>31</sup> Telaah artikel Jin et al mendapatkan hasil yang tidak konsisten dalam hubungan antara tingkat pendidikan dan kepatuhan pengobatan pasien,

sebagian mendapatkan pendidikan yang lebih tinggi lebih patuh, sebagian mendapatkan tidak ada hubungan bahkan sebagian lagi mendapatkan pasien dengan tingkat pendidikan lebih rendah lebih patuh terhadap pengobatan.<sup>28</sup>

Umur, jenis kelamin, suku, penghasilan keluarga, pekerjaan dan pendidikan bukanlah prediktor yang konsisten dari ketidakpatuhan pasien dalam pengobatan TB.<sup>26,27</sup> Besarnya masalah ketidakpatuhan dalam pengobatan TB lebih tergantung pada promosi yang digunakan pada pendefinisian penyakit ini, populasi pasien, dan keseriusan program pengendalian.<sup>23</sup>

Ekstraksi DNA *M tuberculosis* yang langsung berasal dari sputum sebagai bahan untuk pemeriksaan PCR masih jarang dilakukan pada penelitian-penelitian terdahulu. Kemungkinan akibat sering gagal atau terlalu sedikitnya konsentrasi DNA yang didapatkan dari hasil ekstraksi langsung ini. Sehingga produk PCR DNA *M tuberculosis* yang berasal dari sputum sering tidak memuaskan saat visualisasi elektroforesis gel agarosa

menggunakan *Gel Documentation*. Penelitian terdahulu umumnya melakukan kultur terlebih dahulu sebelum melakukan ekstraksi untuk mendapatkan jumlah koloni *M. tuberculosis* yang cukup. Pada penelitian ini, peneliti mendapatkan hasil yang cukup memuaskan dengan melakukan sedikit modifikasi pada cara kerja persiapan sampel sebelum proses PCR dan elektroforesis, tidak hanya terpaku pada instruksi pabrikan bahan atau jurnal – jurnal terdahulu, peneliti menyarankan cara kerja tersebut agar dapat membantu peneliti selanjutnya yang akan menggunakan sputum sebagai sumber sampel DNA *M. tuberculosis*.

Karena dalam penelitian ini didapati hasil setelah 1 bulan tidak terjadi mutasi gen KatG Ser315Thr (G944C) *M. tuberculosis* baik pada yang patuh dan tidak patuh maka disarankan untuk dilakukan penelitian sampai bulan ke 6 secara berkesinambungan untuk melihat kapan terjadinya mutasi gen ini baik pada yang patuh maupun tidak patuh.

Karena tidak muncul mutasi di gen KatG Ser315Thr (G944C) *M.*

*tuberculosis* pada penelitian ini, ada kemungkinan mutasi terjadi dengan alel yang lain di kodon AGC/Ser315 selain Ser315Thr (AGC→ACC) / G944C. Maka disarankan untuk selanjutnya memeriksa varian mutasi yang lain dari kodon ini.

### KESIMPULAN

Pada penelitian ini, berdasarkan analisis statistik dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa:

1. Karakteristik penderita TB paru BTA positif dijumpai lebih banyak pada laki-laki, kelompok umur terbanyak adalah 41-60 tahun, bervariasi berdasarkan suku, dan lebih sering pada tingkat pendidikan SMA.
2. Keseluruhan sampel gen katG *M. tuberculosis* pada penelitian ini adalah *wild tipe* dan tidak dijumpai adanya mutasi Ser315Thr (G944C) *M tuberculosis* pada penderita TB paru.
3. Distribusi kepatuhan penderita TB paru mengkonsumsi INH dalam penelitian ini adalah patuh 84 orang (84%) dan tidak patuh 16 orang (16%).

4. Tidak dijumpai mutasi gen katG Ser315Thr (G944C) *M tuberculosis* pada pengobatan dengan INH, yang menunjukkan bahwa INH masih sangat sensitif untuk digunakan sebagai obat lini pertama bagi penderita TB paru yang akan mulai mendapat pengobatan OAT.
5. Tidak terdapat hubungan antara karakteristik umur, jenis kelamin, suku dan pendidikan penderita TB dengan tingkat kepatuhan mengkonsumsi INH.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Falzon, D., E. Jaramillo, H.J. Schuñemann, M. Arentz, M. Bauer, J. Bayona, L. Blanc, J.A. Caminero, C.L. Daley, C. Duncombe, C. Fitzpatrick, A. Gebhard, H. Getahun, M. Henkens, T.H. Holtz, J. Keravec, S. Keshavjee, A.J. Khan, R. Kulier, V. Leimane, C. Li dan MZ. WHO Guidelines for The Programmatic Management of Drug-Resistant Tuberculosis: 2011 Update. *Eur Respir J.* 2011;8(3):516-528.
2. Rie, A.V., R. Warren, I.

- Mshanga, A. M. Jordaan, G. D. Van der Spuy, M. Richardson, J. Simpson, R. P. Gie, D. A. Enarson, N. Beyers PDVH dan TCV. Analysis for a Limited Number of Gene Codons Can Predict Drug Resistance of Mycobacterium tuberculosis in a High-Incidence Community. *Clin Microbiol J*. 2001;39(2):636-641.
3. Abe, C., I. Kobayashi, S. Mitarai, M. Wada, Y. Kawabe, T. Takashima, K. Suzuki, L-H Sng, S. Wang, H H Htay dan HO. Biological and Molecular Characteristics of Mycobacterium tuberculosis Clinical Isolates with Low-Level Resistance to Isoniazid in Japan. *J Clin Microbiol*. 2008;46(7):2263-2268.
  4. Rattan, A. AK dan NA. Multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis: molecular perspectives. *Ind J Tub*. 1999;46(51):51-68.
  5. Meissner, PE., P. Musoke, A. Okwera JEGB dan JBSC. The value of urine testing for verifying adherence to anti-tuberculosis chemotherapy in children and adults in Uganda. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2002;6(10):903-908.
  6. Bostanabad, S. Z., L. P. Titov AB dan SAN. Detection of mutation in isoniazid-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates from tuberculosis patients in Belarus. *Indian J Med Microbiol*. 2008;26(2):143-147.
  7. Marahatta, S.B., S. Gautam, S. Dhital, N. Pote, A. K. Jha, R. Mahato, S. Mishra, B. H. Poudel, P. Ramasoota JK dan PS. KatG (SER 315 THR) Gene Mutation in Isoniazid Resistant Mycobacterium tuberculosis. *Kathmandu Univ Med J*. 2011;9(1):19-23.
  8. Kardas P dan WRB. Compliance in anti-infective medicine. *Adv Stud Med* 6(7). 2006;6(7):S652-S658.
  9. Sjahrurachman A. Diagnosis "Multidrug Resistant Mycobacterium" Tuberculosis. *J Tuberkulosis Indones*. 2010;7(2):8-11.
  10. Munoz, E. B., M. F. Dorado

- JEG dan FMM. The effect of an educational intervention to improve patient antibiotic adherence during dispensing in a community pharmacy. *Aten Primaria*. 2014;46(7):367-375.
11. Lina, M. R. BB dan AY. Deteksi mutasi gen KatG Mycobacterium tuberculosis dengan metode PCR (polymerase chain reaction) - Hibridisasi dot blot menggunakan pelacak oligonukleotida bertanda 32P. *Sci J Appl Isot Radiat*. 2009;5(1):54-67.
  12. Gandhi, N. R., A. Moll, A. W. Sturm, R. Pawinski, T. Govender, U. Lalloo, K. Zeller JA dan GF. Extensively drug-resistant tuberculosis as a cause of death in patients co-infected with tuberculosis and HIV in a rural area of South. *Lancet*. 2006.
  13. Musser, J. M., V. Kapur, D. L. Williams, B. N. Kreiswirth, D. V. Soolingen dan JDA van E. Characterization of the Catalase-Peroxidase Gene (katG) and inhA Locus in Isoniazid-Resistant and -Susceptible Strains of Mycobacterium tuberculosis by Automated DNA Sequencing: Restricted Array of Mutations Associated with Drug Resistance. *J Infect Dis*. 1996;(173):196-202.
  14. Ramaswamy, S. V., R. Reich, S-J. Dou, L. Jasperse, X. Pan, A. Wanger TQ dan EAG. Single Nucleotide Polymorphisms in Genes Associated with Isoniazid Resistance in Mycobacterium tuberculosis. *Antimicroba Agents Chemother*. 47(4):1241-1250.
  15. Ahmad, S., E. Fares, G. F. Araj TDC dan ASM. Prevalence of S315T mutation within the katG gene in isoniazid-resistant clinical Mycobacterium tuberculosis isolates from Dubai and Beirut. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2002;6(10):920-926.
  16. Mokrousov, I., T. Otten, M. Filipenko, A. Vyazovaya, E. Chrapov, E. Limeschenko, L. Steklova BV dan ON. Detection of Isoniazid-Resistant Mycobacterium tuberculosis Strains by a Multiplex Allele-

- Specific PCR Assay Targeting katG Codon 315 Variation. *J Clin Microbiol.* 2002;40(7):2509-2512.
17. Guo, H., Q. Seet, S. Denkin LP dan YZ. Molecular characterization of isoniazid-resistant clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* from the USA. *J Med Microbiol.* 2006;55:1527-1531.
  18. Genbanks. *Mycobacterium Tuberculosis H37Rv, Complete Genome.*; 2015. [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC\\_000962.3?report=genbank](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_000962.3?report=genbank).
  19. Colangeli, R., V. L. Arcus, R. T. Cursons, A. Ruthe, N. Karalus, K. Coley, S. D. Manning, S. Kim EM dan DA. Whole Genome Sequencing of *Mycobacterium tuberculosis* Reveals Slow Growth and Low Mutation Rates during Latent Infections in Humans. *PLoS One.* 2014;9(3):91024.
  20. Ragheb, M. N, C. B. Ford, M. R. Chase PLL dan JLF. The mutation rate of mycobacterial repetitive unit loci in strains of *M. tuberculosis* from cynomolgus macaque infection. *BMC Genomics.* 2013;14(145):1471-2164.
  21. Andina M. Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada Sputum Penderita Tuberkulosis Paru Basil Tahan Asam Negatif dengan Reaksi Rantai Polimerase. 2012.
  22. Al-Hajjaj MS dan IMA-K. High rate of non-compliance with anti-tuberculosis treatment despite a retrieval system: a call for implementation of directly observed therapy in Saudi Arabia. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2000;4(4):345–349.
  23. Naing, N. N., C. D’Este, A. R. Isa, R. Salleh NB dan MRM. Factors contributing to poor compliance with anti-tb treatment among tuberculosis patients. *Southeast Asian J Trop Med Public Heal.* 2001;32(2):369-382.
  24. Organization WH. *Global Tuberculosis Report 2014.*; 2014.
  25. SY C. Factors associated with poor patient compliance with

- antituberculosis therapy in Northwest Perak, Malaysia. *Tubercle*. 1991;72:261-264.
26. Haynes, R.B., D. W. Taylor DLS. *Compliance in Health Care. Baltimore, Maryland*.
27. Stephenson, B. J., B. H. Rowe, R. B. Haynes WMM dan GL. Is This Patient Taking the Treatment as Prescribed? *J Am Med Assoc*. 1993;269(21):2779-2781.
28. Jin, J., G. E. Sklar VMSO dan SCL. Factors affecting therapeutic compliance: A review from the patient's perspective. *Ther Clin Risk Manag*. 2008;4(1):269-286.
29. Suswati E. Hubungan tingkat pendidikan dengan kepatuhan minum obat pada penderita tuberkulosis paru. *Pengemb Pendidik*. 2006;3(1):67-73.
30. Gad, A., A. M. A. Mandil, A. A. R. Sherif ZMG dan SS. Compliance with antituberculosis drugs among tuberculosis patients in Alexandria, Egypt. *East Mediterr Heal Journal*. 1997;3(2):244-250.
31. Bello SI dan OAI. Drug adherence amongs tuberculosis patients in the university of Ilorin Teaching Hospital, Ilorin, Nigeria. *African J Pharm Pharmacol*. 2010;4(3):109-144.