

**DETEKSI MUTASI GEN *rpoB* PADA PENDERITA KUSTA TERAPI MDT
(MULTI DRUGS THERAPY) METODE MULTIPLEX ALLELE-SPECIFIC
POLYMERASE CHAIN REACTION (MAS-PCR)**

***DETECTION MUTATION Of *rpoB* GENE IN LEPROSY PATIENT MDT (MULTI
DRUGS THERAPY) THERAPY MULTIPLEX ALLELE-SPECIFIC POLYMERASE
CHAIN REACTION (MAS-PCR) METHOD***

Rafika¹, Syahida Djasang², Jessy Julio Tuhuleruw³
Poltekkes Kemenkes Makassar

Koresponden: jessyjulio.th@gmail.com 081344837369

ABSTRACT

Leprosy, a chronic infectious disease caused by Mycobacterium leprae, remains a global public health issue, with rifampicin-based multidrug therapy (MDT) as the mainstay of treatment. This study aims to detect mutations in the rpoB gene, a marker of rifampicin resistance, in newly diagnosed leprosy patients undergoing MDT using the Multiplex Allele-Specific PCR (MAS-PCR) method. This descriptive observational study involved seven samples from newly diagnosed leprosy patients. Although pre-gene PCR for M. leprae yielded negative results in all seven samples (no positive M. leprae marker bands were detected at 531 bp), MAS-PCR analysis successfully detected the rpoB gene in all samples (100%). A significant finding was the presence of mutations in the rpoB gene in all seven samples: one sample (14.3%) had mutations in three target codons (516, 526, and 531), while the remaining six samples (85.7%) had mutations in two target codons (516 and 531). These results indicate a high prevalence of rpoB gene mutations in new leprosy patients, which could potentially lead to rifampicin resistance. The disparity between negative pre-gene PCR for M. leprae and positive rpoB MAS-PCR may be due to extremely low bacterial load or differences in sensitivity between methods. This study highlights the importance of molecular screening for drug resistance, particularly in new cases, to guide treatment strategies and control the spread of M. leprae strains resistant to rifampicin.

Keywords : *Leprosy, Mycobacterium leprae, Rifampicin resistance, rpoB gene, MAS PCR*

ABSTRAK

Kusta, penyakit menular kronis yang disebabkan oleh *Mycobacterium leprae*, masih menjadi masalah kesehatan masyarakat global, dengan terapi multidrug (MDT) berbasis rifampisin sebagai pilar utama pengobatan. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi mutasi gen *rpoB*, penanda resistensi rifampisin, pada penderita kusta baru yang sedang menjalani MDT menggunakan metode *Multiplex Allele-Specific PCR* (MAS-PCR). Penelitian observasional deskriptif ini melibatkan 7 sampel penderita kusta baru. Meskipun PCR *pra-gene* *M. leprae* menunjukkan hasil negatif pada ketujuh sampel (tidak ditemukannya pita *band* penanda positif *M. leprae* pada 531 bp), analisis

MAS-PCR berhasil mendeteksi gen *rpoB* pada seluruh sampel (100%). Temuan signifikan adalah adanya mutasi pada gen *rpoB* di ketujuh sampel tersebut: satu sampel (14,3%) mengalami mutasi pada tiga kodon target (516, 526, dan 531), sementara enam sampel (85,7%) lainnya mengalami mutasi pada dua kodon target (516 dan 531). Hasil ini mengindikasikan tingginya prevalensi mutasi gen *rpoB* pada penderita kusta baru, yang berpotensi menyebabkan resistensi rifampisin. Disparitas antara PCR *pra-gene M. leprae* negatif dan MAS-PCR *rpoB* positif kemungkinan disebabkan oleh beban bakteri yang sangat rendah atau perbedaan sensitivitas antar metode. Studi ini menyoroti pentingnya skrining molekuler resistensi obat, terutama pada kasus baru, untuk memandu strategi pengobatan dan mengendalikan penyebaran strain *M. leprae* yang resisten.

Kata kunci : Kusta, *Mycobacterium leprae*, Resistensi Rifampisin, Gen *rpoB*, MAS-PCR

PENDAHULUAN

Kusta merupakan penyakit infeksi kronis yang masih menjadi masalah kesehatan global, terutama di negara-negara seperti India, Brazil, dan Indonesia yang menyumbang sekitar 80% kasus baru di dunia. Penyakit ini disebabkan oleh *Mycobacterium leprae* atau *Mycobacterium lepromatosis*, yang menyerang kulit dan saraf tepi. Keterlambatan diagnosis dan pengobatan dapat menyebabkan kerusakan permanen dan stigma sosial yang berat (Hambridge et al., 2021).

Pada tahun 2023, tercatat 182.815 kasus baru kusta di 184 negara, termasuk 10.322 anak-anak dan 9.729 kasus dengan disabilitas tingkat dua (World Health Organization, 2024). Di Indonesia, sebagian besar wilayah telah mencapai eliminasi kusta. Namun masih terdapat 14.376 kasus baru yang tersebar di seluruh provinsi. Provinsi-provinsi seperti Sulawesi Selatan dan Papua menunjukkan jumlah kasus yang tinggi (Kemenkes RI, 2023). Kota Makassar merupakan salah satu wilayah dengan beban kasus yang tinggi, terutama di Kecamatan Tamalate yang dikenal sebagai “kampung kusta” dengan ratusan kasus setiap tahunnya. Berdasarkan survey yang telah dilakukan, jumlah penderita kusta per tahun 2024 yang terdata sebanyak 400 kasus, terdiri dari penderita yang sudah sembuh maupun yang masih dalam tahap pengobatan.

Pengobatan kusta menggunakan MDT (*Multi Drug Therapy*), dengan rifampisin sebagai komponen utama yang memiliki sifat bakterisidal kuat. Rifampisin bekerja dengan menghambat RNA polymerase bakteri dan efektif membunuh 99% bakteri dalam sekali dosis (Deviana, 2019). Ketidakpatuhan terhadap terapi dan resistensi antimikroba (AMR) masih menjadi hambatan utama dalam pengendalian penyakit ini (Li et al., 2022). Mutasi pada gen *rpoB* yang menyandi subunit RNA polymerase diketahui menyebabkan resistensi terhadap rifampisin. Oleh karena itu, deteksi dini mutasi ini sangat penting untuk menunjang efektivitas pengobatan (Kshirsagar et al., 2020).

M. leprae ditularkan terutama melalui inhalasi droplet saat penderita batuk atau bersin, dengan jumlah bakteri mencapai 110.000 per bersin. Bakteri masuk ke aliran darah tanpa menimbulkan lesi paru. Penularan juga dapat terjadi melalui kontak kulit yang terluka, terutama pada kontak erat dan berulang. Transmisi melalui plasenta masih diperdebatkan, namun didukung oleh kasus bayi tanpa riwayat kontak. Darah penderita, terutama tipe lepromatosa, mengandung banyak *M. leprae* sehingga transfusi dan transplantasi organ diduga sebagai jalur penularan. Meskipun *M. leprae* terdeteksi dalam ASI, penularan lewat saluran cerna belum terbukti (Darmawan & Rusmawardiana, 2020).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Siskawati (2013), mengenai kejadian resistensi rifampisin pada pasien kusta tipe multibasiler (MB) terhadap 57 sampel *slit skin*. Pada kelompok kepatuhan pengobatan baik (29 sampel), resistensi rifampisin terjadi pada 1 sampel. Sedangkan pada kelompok kepatuhan pengobatan buruk (28 sampel), ditemukan 8 sampel dengan *M. leprae* yang resisten terhadap rifampisin.

Kshirsagar (2020) dalam penelitian yang telah dilakukan tentang deteksi molekuler mutasi pada gen *rpoB* yang terlibat dalam resistensi rifampisin pada pasien kusta tipe mb dari Pantai Gading menjelaskan sebanyak 48 isolat *slit skin* digunakan untuk melakukan amplifikasi gen *rpoB* yang terlibat dalam resistensi rifampisin. Dengan demikian, 24 isolat mengalami mutasi, 11 di antaranya mengalami mutasi yang menyebabkan resistensi terhadap rifampisin.

Penelitian yang dilakukan oleh Maladan et al. (2018) menganalisis mutasi gen *rpoB* pada *Mycobacterium leprae* pada pasien kusta kambuh dan putus berobat di Kota Jayapura, Papua. Dari 34 sampel yang diperiksa, 9 sampel menunjukkan hasil positif basil tahan asam (BTA), sementara 25 lainnya negatif. Hasil PCR menunjukkan bahwa 31 sampel berhasil teramplifikasi, sedangkan 3 sampel tidak. Analisis BLAST lebih lanjut mengungkapkan bahwa tidak ditemukan mutasi pada gen *rpoB* yang berpotensi menyebabkan resistensi terhadap rifampisin.

Multiplex Allele-Specific Polymerase Chain Reaction (MAS-PCR) dapat mendeteksi secara sekaligus mutasi genetik terkait resistensi INH dan RIF yang paling umum dengan biaya yang relatif lebih murah serta membutuhkan keahlian teknis (Chia et al., 2012). Dalam konteks mendeteksi mutasi gen pada pasien kusta, MAS-PCR dapat berfungsi sebagai alat yang efisien untuk mengidentifikasi variasi genetik. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Hadijah, MAS-PCR digunakan sebagai metode dalam penelitiannya adapun hasil penelitian ditemukan adanya mutasi gen dalam sampel yang digunakan, sebagai penanda resisten terhadap jenis obat yang menjadi dasar penelitiannya (Hadijah, 2012).

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi mutasi gen *rpoB* pada penderita kusta yang menjalani terapi MDT menggunakan metode MAS-PCR.

METODE

Desain, tempat dan waktu

Observasional laboratorik, yaitu melakukan uji laboratorium untuk mendeteksi mutasi gen *rpoB* pada pasien kusta dengan terapi *Multi Drugs Therapy* (MDT). Pengambilan sampel dilakukan di 9 RT pada Wilayah Kampung Kusta, Jl. Dangko, Kecamatan Tamalate, Kelurahan Parangtambung, Kota Makassar. Pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium *Hasanuddin University Medical-Research Center (HUM-RC)* Makassar. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April sampai dengan Mei 2025.

Jumlah dan cara pengambilan sampel

Populasi dalam penelitian ini yaitu seluruh penderita kusta di wilayah kampung kusta, Kecamatan Tamalate, Kota Makassar. Sampel yang digunakan adalah sampel darah penderita kusta sedang menjalani terapi MDT yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sebanyak 7 sampel yang ditentukan berdasarkan jumlah pasien aktif di lokasi penelitian dan ketersediaan sampel di lapangan. Teknik pengambilan spesimen yang digunakan yaitu teknik *Purposive Sampling*. Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini yaitu *purposive sampling*.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi, Mesin PCR (Biorad), Gel Doc, Mesin Elektroforesis, Sentrifuge, Waterbath, Laminar Flow, BSC Tipe II, Mikropipet (1000µl,

100 µl, 20µl, 10 µl), Cetakan Agarosa, Tips (1000µl, 100µl, 20µl, 10µl), Tabung Ependorf, Tabung PCR, Erlenmeyer dan Gelas Ukur. Bahan yang digunakan terdiri dari DNA yang dimurnikan dari sampel penderita kusta dengan konsentrasi sebanyak 5,0µl. Digunakan primer dengan urutan spesifik untuk pra gen pada *M. leprae* (forward: 5' CTCCACCTGGACCGGCGAT 3'; reverse: 5'GACTAGCCTGCCAAGTCG3') dan gen *rpoB* untuk MAS-PCR dengan beberapa forward primer (codon 516: 5'- CAG CTG AGC CAA TTC ATG GA-3'; codon 526: 5'-CTG TCG GGG TTG ACC CA-3'; codon 531: 5'-CAC AAG CGC CGACTG TC-3) serta satu reverse primer (5'-TTG ACC CGC GCG TACAC-3'). Reaksi PCR dijalankan menggunakan enzim Go taq Master Mix Green dan RNase Free water. Tahap visualisasi hasil amplifikasi dilakukan dengan elektroforesis gel agarosa yang mengandung Ethidium Bromida dan menggunakan buffer TBE 0,5. Sebagai standar ukuran DNA, digunakan DNA ladder/marker 100.

Prosedur Kerja

1. Ekstraksi DNA (gSYNC TMDNA Extraction KIT)

Proses ekstraksi DNA dimulai dengan preparasi sampel, yaitu memasukkan 200 µl darah ke dalam tabung ependorf 1,5 ml, menambahkan PBS hingga 200 µl, lalu 20 µl Proteinase K, kemudian diinkubasi pada 60 °C selama 5 menit. Tahap lisis sel dilakukan dengan menambahkan 200 µl GSB Buffer, divortex dan diinkubasi pada 60 °C selama 20 menit sambil divortex setiap 5 menit. Selanjutnya, tahap DNA binding dilakukan dengan menambahkan 200 µl etanol, divortex 10 detik, dimasukkan ke dalam GS Column, disentrifugasi 14.000–16.000 rpm selama 1 menit, dan cairan dibuang. Proses pencucian dilanjutkan dengan penambahan 400 µl W1 Buffer, disentrifugasi 30 detik, kemudian 600 µl Wash Buffer, disentrifugasi 30 detik, lalu diganti collection tube dan disentrifugasi kembali selama 3 menit. Elusi dilakukan dengan memindahkan GS Column ke tabung ependorf steril, menambahkan 100 µl Elution Buffer hangat, dan disentrifugasi 30 detik. Cairan hasil akhir adalah DNA yang siap digunakan untuk PCR. Reaksi PCR dilakukan menggunakan dua jenis primer: pra-gen *M. leprae* dengan campuran GoTaq Master Mix 12,5 µl, primer forward dan reverse masing-masing 0,5 µl, nuclease-free water 6,5 µl, dan DNA sampel 5 µl (total 25 µl), serta primer MAS-PCR *M. leprae* dengan GoTaq Master Mix 12,5 µl, tiga primer forward dan satu primer reverse masing-masing 0,5 µl, nuclease-free water 3,5 µl, dan DNA sampel 5 µl (total 25 µl).

2. Amplifikasi DNA

Proses amplifikasi DNA dimulai dengan PCR pra-gen *M. leprae* yang dilakukan dalam 32 siklus, masing-masing terdiri dari tahap denaturasi pada 94 °C selama 2 menit untuk memisahkan untai ganda DNA, annealing pada 55 °C selama 2 menit untuk penempelan primer pada sekuens target, dan ekstensi pada 72 °C selama 3 menit untuk sintesis untai DNA baru oleh DNA polimerase. Selanjutnya, amplifikasi dilanjutkan dengan metode MAS-PCR yang bertujuan mendeteksi mutasi pada gen *rpoB* menggunakan primer spesifik untuk tiga kodon target, yaitu 516, 526, dan 531. Reaksi MAS-PCR dilakukan dengan denaturasi awal pada 95 °C selama 5 menit, diikuti 40 siklus denaturasi pada 94 °C selama 1 menit, annealing pada 55 °C selama 1 menit, ekstensi pada 72 °C selama 1 menit, dan diakhiri dengan pemanjangan akhir pada 72 °C selama 10 menit.

3. Elektroforesis

Gel agarosa 2% dibuat dengan melarutkan 2 gram agarosa ke dalam 100 ml TBE Buffer 0,5×, lalu dipanaskan hingga larut sempurna. Setelah agak dingin, ditambahkan 5 µl ethidium bromida, kemudian dituangkan ke dalam cetakan dan dibiarkan membeku.

DNA marker disiapkan dengan mencampurkan 25 µl DNA ladder 100 bp ke dalam 1 ml Blue Juice Loading Dye, lalu diberi label baru bertuliskan "marker". Setelah gel mengeras, diletakkan pada chamber elektroforesis yang telah diisi TBE Buffer 0,5× hingga seluruh permukaan gel terendam. Produk PCR dari masing-masing sampel (kontrol positif, negatif, dan uji) sebanyak 8 µl dicampur dengan 2 µl Blue Juice Loading Dye, lalu 10 µl campuran dimuat ke dalam sumur gel, bersama dengan 10 µl DNA marker di sumur pertama. Proses elektroforesis dilakukan dengan arus 100 A selama 150 menit dari kutub negatif ke positif. Setelah selesai, gel diamati untuk melihat pola pita DNA. Dokumentasi gel dilakukan menggunakan sistem Gel Doc, dimulai dengan menyalakan alat dan membuka perangkat lunak Quantity One, meletakkan gel di posisi tengah, dan mengatur fokus serta pencahayaan. Gambar diambil dengan opsi Auto atau Manual Expose, lalu disimpan dan dicetak. Analisis hasil PCR didasarkan pada keberadaan pita DNA; pita dengan ukuran 218 bp, 185 bp, atau 170 bp menandakan gen *rpoB* dalam kondisi tipe liar (wild type) tanpa mutasi. Ketidakhadiran pita-pita tersebut menunjukkan adanya mutasi pada kodon target, yang mengindikasikan resistansi terhadap rifampisin. Sementara itu, untuk validasi keberadaan DNA *M. leprae*, pita sebesar 531 bp menunjukkan hasil positif bahwa DNA genom terdeteksi dalam sampel.

Pengolahan dan analisis data

Data yang diperoleh pada penelitian ini dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel kemudian di narasikan.

HASIL

Berdasarkan penelitian yang dilakukan pada bulan April sampai dengan Mei 2025 di Laboratorim Hasanuddin *University Medical Research Center* - HUMRC Makassar. Sampel yang digunakan yaitu spesimen darah. Adapun hasil penelitian yang dimaksud sebagai berikut:

1. Distribusi Karakteristik Subjek Penelitian

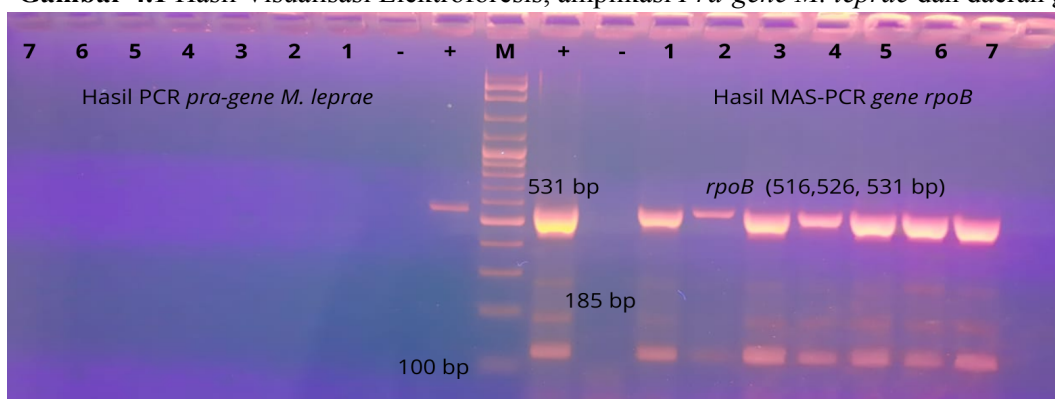
Tabel 4.1 Distribusi Karakteristik Subjek Penelitian

Karakteristik	Jumlah (n)	Persentase %
Jenis Kelamin		
Laki-Laki	4	57,1
Perempuan	3	42,9
Usia		
Anak 10-14 tahun	2	28,6
Dewasa >14 tahun	5	71,4
Jenis Kusta		
Paubasiler (PB)	5	71,4
Multibasiler (MB)	2	28,6
Lama Terapi MDT		
1-6 Bulan	5	71,4
7-12 Bulan	2	28,6
Riwayat Kusta		
Baru	7	100
Relaps	0	0
Kambuh	0	0
Total	7	100

Sumber : Data Primer 2025

2. Hasil Visualisasi Elektroforesis, amplikasi *Pra-gene M. leprae* dan daerah gen *rpoB*

Gambar 4.1 Hasil Visualisasi Elektroforesis, amplikasi *Pra-gene M. leprae* dan daerah gen *rpoB*



Sumber: Data Primer 2025

3. Hasil Pemeriksaan Kadar Timbal

Tabel 4.3 Hasil Pemeriksaan Kadar Timbal

Hasil Penelitian	Jumlah (n)	Persentase (%)
Tidak Bermutasi	0	0
Mutasi	7	100
Total	30	100

Sumber: Data Primer 2025

PEMBAHASAN

Rifampisin merupakan obat krusial dalam mengatasi lepra dan tuberkulosis, dua masalah kesehatan global yang signifikan. Mekanisme aksinya melibatkan penghambatan enzim RNA polimerase yang bergantung pada DNA, di mana rifampin mengikat subunit enzim tersebut dan mengganggu transkripsi. Mutasi pada gen *rpoB*, yang mengkode subunit RNA polimerase ini, telah dilaporkan menyebabkan resistensi terhadap rifampin pada berbagai spesies mikobakteria, termasuk *Mycobacterium leprae* dan *Mycobacterium tuberculosis*. Pada *M. tuberculosis*, sebagian besar (sekitar 95%) resistensi rifampin disebabkan oleh mutasi dalam wilayah 81-bp gen *rpoB* (kodon 507 hingga 533), yang dikenal sebagai *Rifampicin Resistance-Determining Region* (RRDR). Mutasi D516V, H526Y, H526D, dan S531L adalah yang paling sering terkait dengan resistensi rifampin tingkat tinggi pada *M. tuberculosis*, meskipun peran beberapa mutasi lain di wilayah RRDR masih memerlukan konfirmasi lebih lanjut (Nakata et al., 2012). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Nakata et al. (2012), menunjukkan bahwa kodon 516, 526, 531, dan 533 pada gen *rpoB* *M. leprae* diketahui sebagai kodon yang bertanggung jawab atas resistensi terhadap rifampin.

Salah satu temuan krusial dari penelitian ini adalah kontradiksi antara hasil PCR *pra-gene M. leprae* yang menunjukkan negatif pada ketujuh sampel (ditandai dengan tidak ditemukannya pita *band* pada 531 bp yang berfungsi sebagai penanda positif *M. leprae*), namun pada analisis MAS-PCR, gen *rpoB* terdeteksi pada seluruh sampel, ditandai dengan munculnya pita *band* pada 531 bp.

Perbedaan sensitivitas metode PCR turut berpengaruh dalam kejadian diatas, Meskipun *M. leprae pra-gene* PCR diharapkan dapat mendeteksi keberadaan DNA *M. leprae* secara umum, sensitivitasnya mungkin lebih rendah dibandingkan dengan metode MAS-PCR yang dioptimalkan secara spesifik untuk amplifikasi gen *rpoB*. Hal ini bisa terjadi jika PCR *pra-gene* menargetkan gen tunggal atau memiliki efisiensi amplifikasi yang lebih rendah, sementara MAS-PCR *rpoB* dirancang untuk memiliki sensitivitas tinggi (melalui penggunaan primer yang sangat spesifik atau kondisi reaksi yang dioptimalkan). Banyak metode deteksi

M. leprae yang sensitif seperti RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) karena salinannya yang banyak per genom bakteri, yang dapat meningkatkan batas deteksi (Mohanty et al., 2020). Jika PCR *pra-gene* tidak menargetkan sekuens repetitif atau memiliki hambatan amplifikasi, hasilnya bisa negatif meskipun DNA *M. leprae* hadir dalam konsentrasi rendah. Meskipun demikian, deteksi gen *rpoB* pada seluruh sampel membuktikan keberadaan DNA *M. leprae* dalam sampel yang diuji. Hal ini menggaris bawahi pentingnya validasi silang metode PCR dan pertimbangan terhadap batas deteksi serta potensi inhibisi, terutama dalam konteks diagnostik molekuler penyakit infeksi dengan beban patogen yang bervariasi.

MAS-PCR adalah metode molekuler yang memanfaatkan beberapa pasang primer spesifik dalam satu reaksi untuk mengamplifikasi berbagai fragmen DNA target secara simultan. Keunggulan utama MAS-PCR dibandingkan PCR konvensional adalah efisiensi biaya, persiapan, dan waktu analisis. MAS-PCR juga mengatasi keterbatasan kultur mikrobiologi, seperti waktu yang lama, biaya tinggi, risiko kontaminasi, dan kemampuan untuk mengidentifikasi lebih dari satu patogen (Tajbakhsh et al., 2018).

Analisis MAS-PCR menunjukkan pola mutasi yang spesifik: satu sampel (14,3%) mengalami mutasi pada tiga kodon target utama yaitu 516 (170 bp), 526 (185 bp), dan 531 (218 bp), sementara enam sampel lainnya (85,7%) mengalami mutasi pada dua kodon target, yaitu 516 (170 bp) dan 531 (218 bp). Munculnya pita *band* pada kodon target 526 (185 bp) pada sampel 1, 3, 4, 5, 6, dan 7 menunjukkan tidak terjadinya mutasi pada kodon ini, sedangkan pada sampel 2, tidak adanya pita *band* pada daerah kodon target 526 menunjukkan terjadinya mutasi. Sebaliknya, pada kodon target 516 (170 bp) dan 531 (218 bp), tidak ditemukannya pita *band* secara konsisten pada semua sampel mengindikasikan adanya mutasi pada kedua kodon tersebut.

Deteksi mutasi *rpoB* pada 100% sampel pasien kusta baru yang sedang menjalani MDT merupakan temuan yang sangat penting dan mengkhawatirkan. Rifampisin adalah obat bakterisidal yang paling poten dalam regimen MDT kusta, bahkan dosis tunggal 1.200 mg dapat secara signifikan mengurangi viabilitas basil pada manusia (Deviana, 2019). Resistensi terhadap rifampisin dapat menyebabkan kegagalan pengobatan, relaps penyakit, dan memfasilitasi penularan strain *M. leprae* yang resisten di komunitas (Siskawati, 2013).

Mutasi pada gen *rpoB* berkaitan erat dengan perubahan genotipe yang berdampak langsung terhadap fenotipe resistensi terhadap rifampisin. Gen *rpoB* mengkode subunit β dari enzim RNA polimerase. Mutasi yang terjadi pada wilayah RRDR dapat mengubah struktur protein yang menjadi target pengikatan rifampisin. Perubahan ini menyebabkan antibiotik tidak lagi efektif menghambat sintesis RNA bakteri (Cambau et al., 2018). Beberapa mutasi seperti S531L (TCG $\rightarrow$ TTG; serin menjadi leusin), D516N (GAT $\rightarrow$ AAT; aspartat menjadi asparagin), dan H526Y (CAC $\rightarrow$ TAC; histidin menjadi tirosin) terbukti meningkatkan nilai MIC rifampisin secara signifikan, menandakan resistensi tingkat tinggi (Nakata et al., 2012). Dalam penelitian ini, hasil elektroforesis menunjukkan keberadaan pita DNA spesifik pada sampel uji yang mengindikasikan adanya mutasi pada gen *rpoB*, sehingga memperkuat dugaan bahwa mutasi pada kodon-kodon tersebut turut terjadi pada isolat penderita kusta yang diteliti dan berpotensi berkorelasi dengan resistensi terhadap rifampisin.

Prevalensi resistensi rifampisin pada *M. leprae* bervariasi secara geografis. Beberapa penelitian melaporkan insiden resistensi rifampisin yang lebih rendah pada kasus baru, dan lebih sering terjadi pada kasus relaps atau *default* terapi (Maladan et al., 2018). Namun, temuan ini menunjukkan kemungkinan tinggi adanya resistensi primer di populasi yang diteliti. Resistensi obat merupakan komplikasi signifikan dalam penanganan kusta. Resistensi ini terbagi menjadi primer dan sekunder. **Resistensi primer** terjadi ketika strain *M. leprae* resisten muncul secara spontan akibat mutasi pada gen *rpoB* dalam populasi bakteri yang belum terpapar obat, yang pada akhirnya akan menggantikan strain *wild-type*. Sementara itu, **resistensi sekunder** diduga timbul akibat monoterapi dapson dan rifampisin yang tidak

teratur, dosis yang tidak adekuat, atau kesalahan dalam konsumsi obat dan tipe resistensi ini berisiko menjadi resistensi primer di kemudian hari (Oktarina & Marissa, 2023). Faktor-faktor seperti transmisi dari pasien yang resisten, kurangnya kepatuhan pengobatan di masa lalu (meskipun ini kasus baru, transmisi dari orang yang tidak patuh bisa menjadi sumber), atau bahkan kemungkinan mutasi spontan yang dipilih secara genetik (meskipun lebih jarang pada tingkat populasi) dapat berkontribusi pada fenomena ini (Darmawan & Rusmawardiana, 2020).

Temuan bahwa sampel 2 menunjukkan mutasi pada kodon 526 sementara sampel lain tidak (tetapi tetap memiliki mutasi pada 516 dan 531) menyoroti variasi genetik dalam pola resistensi *M. leprae*. Pola mutasi spesifik ini penting untuk memahami mekanisme resistensi dan dapat menjadi dasar untuk pengembangan diagnostik yang lebih tepat di masa depan.

Terjadinya mutasi *missense* pada posisi asam amino 438, 441, 451, 456, dan 458, atau insersi nukleotida antara posisi 439 dan 440, telah terbukti menyebabkan resistensi rifampisin. Namun, mutasi yang teramati pada posisi lain, memerlukan pelaporan yang hati-hati dan harus dikonfirmasi oleh mikrobiolog dari laboratorium referensi internasional (WHO, 2017).

Penanganan dan pengendalian penyakit kusta membutuhkan pemahaman terhadap profil pasien, termasuk distribusi berdasarkan jenis kelamin, usia, dan klasifikasi tipe kusta, sangat esensial untuk menguraikan dinamika penularan dan beban penyakit di suatu populasi (Amaliah et al., 2022).

Berdasarkan data yang disajikan pada Tabel 4.1, profil penderita kusta yang menjadi sampel penelitian ini menunjukkan karakteristik demografi dan klinis yang relevan dengan epidemiologi kusta. Sebanyak 4 orang (57,1%) penderita adalah laki-laki dan 3 orang (42,9%) adalah perempuan, yang sejalan dengan temuan Hambridge et al. (2021) yang menunjukkan penderita berjenis kelamin laki-laki lebih tinggi dibanding perempuan, sesuai juga dengan penelitian yang dilakukan oleh Maymone et al. (2020) yang menyatakan bahwa jenis kelamin laki-laki lebih cenderung berisiko terinfeksi *M. leprae*. Rasio perempuan terhadap laki-laki adalah 1:2. Jumlah kasus perempuan yang lebih sedikit dikaitkan dengan mobilitas yang terbatas dan peluang kontak yang lebih rendah (Alrehaili, 2023).

Dari sisi usia, sampel didominasi oleh individu dewasa (5 orang, 71,4%). Namun keberadaan kasus pada anak berusia 10-14 tahun (2 orang, 28,6%) menjadi indikator adanya transmisi aktif *M. leprae* di komunitas (Darmawan & Rusmawardiana, 2020). Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Amaliah et al. (2022) menunjukkan prevalensi tertinggi pada individu usia dewasa dan produktif. Hal ini kemungkinan besar disebabkan oleh tingginya tingkat pergaulan dan aktivitas sosial pada fase usia tersebut, yang meningkatkan potensi paparan terhadap infeksi, termasuk kusta.

Klasifikasi tipe kusta menunjukkan dominasi tipe pausibasiler (PB) 71,4% lebih banyak dibandingkan tipe multibasiler (MB) 28,6%, dimana tidak sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Amaliah et al. (2022) yang menampilkan persentase tipe MB yang lebih banyak. Hal ini dapat terjadi dengan penanganan yang baik terhadap pasien, yang dapat menurunkan angka kasus pada wilayah tersebut.

Semua penderita adalah penderita kusta baru, dengan sebagian 5 orang (71,4%) berada pada interval pengobatan 1-6 bulan dan 2 orang (28,6%) pada 7-12 bulan. Status sebagai kasus baru ini sangat signifikan karena deteksi mutasi gen *rpoB* pada kelompok ini dapat mengindikasikan resistensi terhadap rifampisin, suatu fenomena yang penting untuk diwaspadai dalam program pengendalian kusta (Maladan et al., 2018).

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yaitu, jumlah sampel yang terbatas, metode MAS-PCR hanya mampu mendeteksi mutasi spesifik yang sesuai dengan desain primer, sehingga kemungkinan mutasi lain di luar target dapat terlewat dan juga tidak menggunakan metode sekuensing yang merupakan standar emas dalam identifikasi mutasi genetik. Oleh karena itu, interpretasi hasil perlu dilakukan secara hati-hati, dan disarankan

adanya studi lanjutan dengan pendekatan yang lebih menyeluruh.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa terjadi mutasi gen *rpoB* pada kodon target yang digunakan, yaitu kodon 516, 526 dan 531, dimana deteksi mutasi gen *rpoB* pada semua sampel penderita kusta yang diteliti, bahkan pada kasus baru yang sedang menjalani MDT, merupakan indikasi kuat adanya resistensi terhadap rifampisin. Temuan ini menyoroti perlunya pemantauan resistensi obat secara rutin pada pasien kusta, terutama di area dengan prevalensi tinggi atau di mana ada indikasi kegagalan pengobatan. Pengawasan resistensi molekuler sangat penting untuk memandu pemilihan regimen terapi yang efektif dan mencegah penyebaran *M. leprae* yang resisten.

SARAN

Berdasarkan kesimpulan yang dilakukan, maka dapat dikemukakan saran sebagai berikut: kepada peneliti selanjutnya, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengkonfirmasi status resistensi ini melalui metode lain seperti pengujian kerentanan obat *in vitro* (jika memungkinkan) atau *whole genome sequencing*. Terhadap klinisi, sebagai informasi terkait hasil penelitian untuk dapat dilanjutkan pemeriksaan lebih lanjut dan dapat menggunakan PCR sebagai penegakan diagnosa untuk mendeteksi kemungkinan terjadinya resistensi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Tuhan Yesus Kristus yang telah memberikan kesehatan dan kekuatan untuk mengerjakan semuanya dengan baik dan kepada orang tua beserta keluarga tercinta yang selalu memberi semangat. Terima kasih yang sebesar-besarnya kepada : Bapak Rusli, Sp, FRS, Apt selaku Direktur Poltekkes Kemenkes Makassar, Bapak Rahman, S.Si, M.Si selaku Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Ibu Hj. Syahida Djasang, SKM, M.MKes, selaku Ketua Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis sekaligus Pembimbing II, Ibu Rafika, S.Si., M.Kes selaku pembimbing akademik sekaligus Pembimbing I dan Bapak M. Askar, S.Kep., Ns., M.Kes selaku Penguji.

DAFTAR PUSTAKA

- Alrehaili, J. (2023). Leprosy Classification, Clinical Features, Epidemiology, and Host Immunological Responses: Failure of Eradication in 2023. *Cureus*, 15(9), 1–19. <https://doi.org/10.7759/cureus.44767>
- Amaliah, R., Yuniati, L., Roem, N. R., Vitayani, S., & Setiawati, S. (2022). Karakteristik Penderita Lepra (Kusta) yang Menjalani Pengobatan Rawat Jalan di Puskesmas Tamalate Makassar Periode 2018-2021. *Fakumi Medical Journal: Jurnal Mahasiswa Kedokteran*, 3(5), 357–365.
- Cambau, E., Saunderson, P., Matsuoka, M., Cole, S. T., Kai, M., Suffys, P., Rosa, P. S., Williams, D., Gupta, U. D., Lavania, M., Cardona-Castro, N., Miyamoto, Y., Hagge, D., Srikantam, A., Hongseeng, W., Indropo, A., Vissa, V., Johnson, R. C., Cauchoix, B., ... Nanba, Y. (2018). Antimicrobial resistance in leprosy: results of the first prospective open survey conducted by a WHO surveillance network for the period 2009–15. *Clinical Microbiology and Infection*, 24(12), 1305–1310. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.02.022>
- Chia, B. S., Lanzas, F., Rifat, D., Herrera, A., Kim, E. Y., Sailer, C., Torres-Chavolla, E., Narayanaswamy, P., Einarsson, V., Bravo, J., Pascale, J. M., Ioerger, T. R., Sacchettini, J. C., & Karakousis, P. C. (2012). Use of multiplex allele-specific polymerase chain reaction (MAS-PCR) to detect multidrug-resistant tuberculosis in Panama. *PLoS ONE*, 7(7), 1–7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040456>
- Darmawan, H., & Rusmawardiana, R. (2020). Sumber dan cara penularan Mycobacterium

- leprae. *Tarumanagara Medical Journal*, 2(1), 186–197.
<https://doi.org/10.24912/tmj.v2i2.7860>
- Deviana, R. (2019). Rifampisin Ofloksasin Minosiklin (ROM) sebagai Terapi Alternatif Morbus Hansen. *Cermin Dunia Kedokteran*, 46, 24–27.
- Hadijah, S. (2012). *DETEKSI RESISTENSI INH DENGAN MAS-PCR PADA BILASAN LAMBUNG PASIEN ANAK DI MAKASSAR*.
- Hambridge, T., Chandran, S. L. N., Geluk, A., Saunderson, P., & Richardus, J. H. (2021). Mycobacterium leprae transmission characteristics during the declining stages of leprosy incidence: A systematic review. In *PLoS Neglected Tropical Diseases* (Vol. 15, Issue 5).
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009436>
- Kemendes RI. (2023). Laporan Kinerja Direktorat Pencegahan Dan Pengendalian Penyakit Menular Tahun 2023. *Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*, 1–119.
- Kshirsagar, S. B., Takarkhede, S., Jha, A. G., Jain, R. P., Jadhav, V. S., & Jadhav, D. D. (2020). Molecular detection of mutations in rpoB gene involved in rifampin resistance in leprosy patients from Côte d'Ivoire. *World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences*, 04(03), 59–76. <https://doi.org/10.30574/wjbphs>
- Li, X., Li, G., Yang, J., Jin, G., Shao, Y., Li, Y., Wei, P., & Zhang, L. (2022). Drug Resistance (Dapsone, Rifampicin, Ofloxacin) and Resistance-Related Gene Mutation Features in Leprosy Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(20). <https://doi.org/10.3390/ijms232012443>
- Maladan, Y., Lestari, C. S. W., Tanjung, R., Cahyani, V. D., & Rokhmad, M. F. (2018). Molecular Detection Mutation of rpoB Gene Mycobacterium leprae in Relapse and Default of Leprosy Patient in Jayapura City, Papua. *Health Science Journal of Indonesia*, 9(1), 31–36. <https://doi.org/10.22435/hsji.v9i1.462>
- Maymone, M. B. C., Laughter, M., Venkatesh, S., Dacso, M. M., Rao, P. N., Stryjewska, B. M., Hugh, J., Dellavalle, R. P., & Dunnick, C. A. (2020). Leprosy: Clinical aspects and diagnostic techniques. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 83(1), 1–14.
<https://doi.org/10.1016/j.jaad.2019.12.080>
- Mohanty, P. S., Naaz, F., Bansal, A. K., Kumar, D., Sharma, S., Arora, M., Singh, H., Katara, P., Soni, N., Patil, S. A., & Singh, M. (2020). Molecular detection of Mycobacterium leprae using RLEP-PCR in post elimination era of leprosy. *Molecular Biology Research Communications*, 9(1), 17–22. <https://doi.org/10.22099/mbrc.2020.35658.1464>
- Nakata, N., Kai, M., & Makino, M. (2012). Mutation analysis of mycobacterial rpoB genes and rifampin resistance using recombinant Mycobacterium smegmatis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(4), 2008–2013. <https://doi.org/10.1128/AAC.05831-11>
- Oktarina, C., & Marissa, M. (2023). Diagnosis and Management of Leprosy Relapse. *Media Dermato-Venereologica Indonesia*, 49(2), 76–131.
<https://www.researchgate.net/publication/368654751>
- Tajbakhsh, A., Ghasemi, F., Mirbagheri, S. Z., Heravi, M. M., Rezaee, M., & Meshkat, Z. (2018). Investigation of the rpoB Mutations Causing Rifampin Resistance by Rapid Screening in Mycobacterium Tuberculosis in North-East of Iran. 13(4), 429–437.
- WHO. (2017). *A guide for surveillance of antimicrobial resistance in leprosy: 2017 update*.
- World Health Organization. (2024). Global leprosy (Hansen disease) update, 2023: Elimination of leprosy disease is possible – Time to act! *Weekly Epidemiological Record Relevé Épidémiologique Hebdomadaire*, 99(37), 501–521.
<https://reliefweb.int/report/world/weekly-epidemiological-record-wer-13-september-2024-vol-99-no-37-pp-497-522-enfr>



KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MAKASSAR

Jalan Wijaya Kusuma Raya No. 46, Rappoccini, Makassar

E-mail: kepkipolkesmas@poltekkes-mks.ac.id



KETERANGAN LAYAK ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL EXEMPTION
"ETHICAL EXEMPTION"
No.: 0457/M/KEPK-PTKMS/III/2025

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The research protocol proposed by

Peneliti Utama : JESSY JULIO TUHULERUW
Principal in Investigator

Nama Institusi : Alih Jenjang Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar
Name of the Institution

Dengan Judul:
Title

**"DETEKSI MUTASI GEN *rpoB* PADA PENDERITA KUSTA TERAPI MDT (MULTI DRUGS THERAPY)
METODE MULTIPLEX ALLELE-SPECIFIC POLYMERASE CHAIN REACTION (MAS-PCR) "**

***"DETECTION MUTATION OF *rpoB* GENE IN LEPROSY PATIENT MDT (MULTI DRUGS THERAPY) THERAPY
MULTIPLEX ALLELE-SPECIFIC POLYMERASE CHAIN REACTION (MDT) METHOD"***

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 24 Maret 2025 sampai dengan tanggal 24 Maret 2026.

Declaration of ethics applies during the period March 24, 2025 until March 24, 2026.



March 24, 2025
Professor and Chairperson,

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

LEMBAR INFORMED CONCENT
(PERSETUJUAN RESPONDEN)

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama :

Umur :

Jenis Kelamin : (Laki-Laki/ Perempuan)*

Alamat :

Sudah mendapatkan keterangan secukupnya dari peneliti serta mengetahui manfaat dari penelitian yang berjudul "**Deteksi Mutasi Gen *rpoB* pada Penderita Kusta Terapi MDT (*Multi Drugs Therapy*) Metode *Multiplex Allele-Specific Polymerase Chain Reaction (MAS-PCR)*"** maka saya menyatakan (bersedia/ tidak bersedia)* dilibatkan sebagai sampel dalam penelitian ini. Demikian pemyataan ini saya buat dengan sebenarnya tanpa tekanan dari pihak manapun.

Makassar, April 2025

Peneliti

Responden

(Jessy Julio Tuhuleruw)

()

Keterangan :

(*) Coret yang tidak perlu.