

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Mycobacterium tuberculosis*

Mycobacterium tuberculosis merupakan bakteri gram positif penyebab penyakit Tuberkulosis. Ukurannya berbentuk basil sekitar 1-4 μm panjang dan 0,3–0,56 μm lebar dan bersifat obligat aerob. Bakteri memiliki dinding sel yang terdiri dari lipid yang tebal, yang mengakibatkan bakteri ini tahan terhadap antibiotik dan disinfektan.

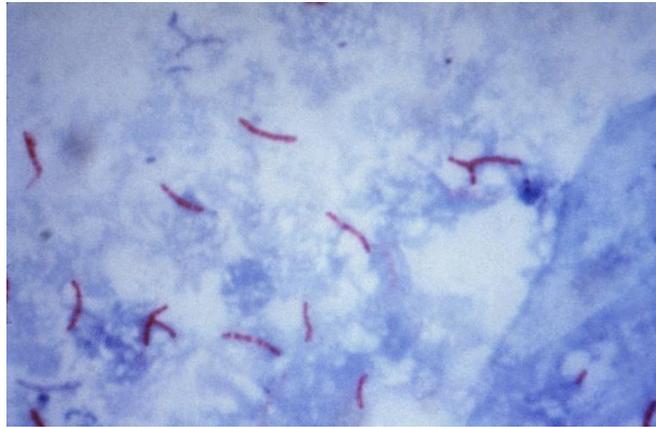
Infeksi yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* ini akan memasuki saluran pernafasan lalu diambil oleh makrofag untuk menetralkan patogen. Namun, bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dapat bertahan dan berkembang biak dalam sel dengan cara mengganggu proses fusi antara fagosom dan lisosom untuk menghindari penghancuran yang dilakukan makrofag. Hal ini akan membuat sel sel imun mengisolasi bakteri, tetapi berdampak pada kerusakan jaringan dan gejala klinis atau terbentuknya granuloma. Penyakit Tuberkulosis akan muncul dalam berbagai bentuk, mulai dari TB paru yang memiliki gejala batuk yang berkepanjangan, demam, berat badan menurun, hingga TB extrapulmonari yang mempengaruhi organ lainnya seperti ginjal, tulang dan sistem saraf.

Pengobatan ini sangat membutuhkan waktu yang lama berkisar 6-12 bulan. Namun, munculnya strain *Mycobacterium tuberculosis* yang resisten menjadi permasalahan dan tantangan besar dalam pengendalian penyakit ini, sehingga penelitian dan pengembangan pada penyakit dan pengobatan pada penyakit ini sangat penting dalam mengatasinya (Skalska *et al.*, 2017).

2.1.1 Karakteristik *Mycobacterium tuberculosis*

Mycobacterium tuberculosis memiliki bakteri dengan karakter unik dari bakteri pada umumnya, bakteri tersebut tidak memiliki alat gerak (non-motile). Hal ini disebabkan karena bakteri ini tidak memiliki struktur pergerakan seperti flagela. Sebagai bakteri intraseluler fakultatif, *Mycobacterium tuberculosis* telah beradaptasi

untuk bertahan dan berkembang biak di dalam makrofag tanpa perlu bermigrasi (Irianti & Velayati, 2016).



Gambar 2. 1. Penampakan *Mycobacterium tuberculosis* dibawah mikroskopperbesaran 40x dengan metode pewarnaan Ziehl Neelsen (Sumber: Neumann et al., 2020).

Mycobacterium tuberculosis tidak dapat diklasifikasikan sebagai bakteri gram-positif maupun Gram-negatif karena struktur dinding selnya berbeda. Bakteri ini tidak memiliki membran luar seperti bakteri Gram-negatif, tetapi memiliki lapisan kompleks yang terdiri dari peptidoglikan, arabinogalaktan, dan asam mikolat yang berfungsi sebagai penghalang permeabilitas eksternal. Karena karakteristik tersebut, *Mycobacterium tuberculosis* diklasifikasikan sebagai bakteri tahan asam.

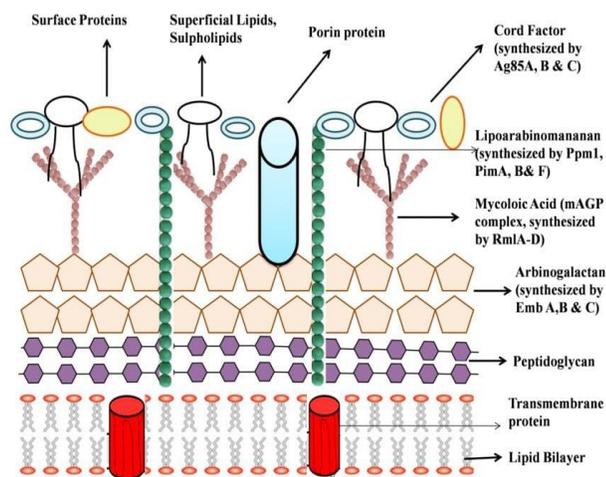
Jika dilakukan pewarnaan Gram pada *Mycobacterium tuberculosis*, hasilnya menunjukkan warna Gram-positif yang sangat lemah atau bahkan tidak berwarna sama sekali. Namun, melalui metode pewarnaan tahan asam seperti Ziehl-Neelsen, *Mycobacterium tuberculosis* akan mempertahankan pewarna fuchsin setelah proses pemanasan dan pemberian zat asam, menghasilkan warna merah muda di bawah mikroskop.

Mycobacterium tuberculosis memiliki laju pertumbuhan yang lambat dengan waktu pembelahan sekitar 12 hingga 24 jam. Proses kultur bakteri ini memerlukan waktu hingga 21 hari pada media pertumbuhan. Isolasi *Mycobacterium tuberculosis* menggunakan media Lowenstein-Jensen atau Middlebrook membutuhkan waktu

sekitar 3 hingga 6 minggu untuk menghasilkan koloni yang dapat diamati (Irianti & Mada, 2018).

2.1.2 Struktur *Mycobacterium tuberculosis*

Mycobacterium tuberculosis memiliki stuktur yang kompleks dan terdiri dari beberapa bagian utama, yaitu Asam mikolat, Cord factor, Wax-D. Setiap bagian memiliki fungsi yang berbeda dalam melindungi dan menyediakan nutrisi bagi *Mycobacterium tuberculosis*.



Gambar 2. 2. Struktur dinding sel *Mycobacterium tuberculosis* yang kompleks terdiri dari beberapa lapisan (Sumber: Neumann *et al.*, 2020).

a. Asam Mikolat

Asam mikolat adalah penentu utama permeabilitas dinding sel mikobakteria karena sifat hidrofobiknya yang kuat. Asam mikolat membentuk lapisan lipid di sekeliling organisme. Lapisan ini mempengaruhi sifat permeabilitas permukaan sel. Asam mikolat dianggap sebagai faktor penting yang bertanggungjawab terhadap keganasan *Mycobacterium tuberculosis* karena komponen ini melindungi bakteri dari serangan protein kationik, lisozim dan radikal oksigen di dalam granula fagositik. Komponen ini juga melindungi mikobakteria ekstraseluler dari serangan di serum

b. Cord factor (Trehalosa Dimikolat)

Cord Factor atau Trehalosa mikolat adalah glikolipid utama yang ditemukan pada dinding sel *Mycobacterium tuberculosis*. Cord factor berperan dalam virulensi dengan menghambat migrasi makrofag dan menginduksi respons inflamasi yang berlebihan atau sebagai pelindung dari makrofag pada bakteri dan menjadi komponen paling berlimpah pada strain *Mycobacterium tuberculosis* yang ganas.

c. Wax-D

Wax-D adalah komponen yang terdapat pada dinding sel *Mycobacterium tuberculosis*. Komponen ini tersusun dari glikolipid dan peptidoglikolipid yang memiliki sifat sebagai adjuvan, yaitu meningkatkan respons imun tubuh terhadap antigen. Karena sifatnya tersebut *Mycobacterium tuberculosis* menjadi sulit dihancurkan diantaranya, sulit menyerap pewarna atau impermeabilitas terhadap *stain and dye* dan tahan terhadap antibiotik atau resisten serta resistensi terhadap oksidasi dan daya tahan di makrofag.

2.2 Rifampisin

Rifampisin merupakan salah satu obat antibiotik lini pertama yang digunakan dalam pengobatan *mycobacterium tuberculosis*. Rifampisin menjadi dasar terapi saat ini dengan fungsi utama yaitu mengurangi durasi terapi dari 12 bulan menjadi jangka 6 bulan. Rifampisin memiliki sebuah inti aromatik yang dihubungkan dengan kedua sisi oleh jembatan afilatik. Rifampisin akan mudah menyebar karena bersifat lipofil melalui membran sel bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (Wade dan Zhang, 2004). Obat ini mampu menghambat proses transkripsi akibat ikatan dengan afinitas tinggi pada DNA-dependent RNA polymerase. Walaupun target molekuler rifampisin telah dikarakterisasi dengan baik, mekanisme tepatnya dari kelas obat ini masih belum terlalu jelas (Anastasia *et al.*, 2012).

2.2.1 Mekanisme kerja Rifampisin

Rifampisin merupakan antibiotik yang memiliki bekerja dengan menghambat dari RNA polymerase bakteri *Mycobacterium tuberculosis* sehingga mengganggu sintesis RNA dan protein pada bakteri dengan cara menghambat enzim RNA polymerase. Enzim ini berfungsi untuk proses transkripsi DNA menjadi RNA. Dengan mengikat RNA polymerase, Rifampisin menghalangi ikatan fosfodiaster pada sintesis RNA. Hal ini dapat menyebabkan gangguan dalam pertumbuhan bakteri sehingga infeksi dapat dikendalikan. Hal ini mengakibatkan terhambatnya orises transkripsi, sehingga bakteri tidak dapat menghasilkan RNA messenger (mRNA), RNA transfer (tRNA). Rifampisin dapat menjadi perpendekan durasi waktu dari 12 bulan pengobatan menjadi menjadi 6 bulan.

Rifampisin juga aktif dalam membunuh bakteri *bacilling growing* dan *non growing* tetapi dengan metabolisme lambat. Obat ini memiliki kemampuan dalam merusak *bacillidormant* pada lokasi seluler maupun ekstraseluler, Mekanisme ini disebut mekanisme aksi rifampisin. Rifampisin ini akan terikat pada sub-unit beta DNA- dependent RNA polymerase sehingga mengakibatkan terhambatnya transkripsi. Rifampisin adalah bakterisida spektrum luas yang mencakup bakteri gram positif dan negatif (mencakup *pseudomonas aueruginosa*) dan *Mycobacterium tuberculosis*. Obat ini menunjukkan aktifitas sangat efektif terhadap bakteri yang masih tersisa dalam pengobatan lanjutan dengan cara peningkatan dosis daro 600mg ke 900 mg setiap haari akan mempercepat stresilisasi. (Brennan et all., 2008). Namun, Resistensi dari bakteri *Mycobacterium tuberculosis* semakin meningkat akibat mutasi yang terjadi pada gen *rpoB*.

2.2.2 Peran Mutasi Gen *rpoB* dalam Resistensi Rifampisin

Gen *rpoB* memiliki fungsi untuk mengkode RNA polymerase dalam proses penerjemahan kode basa nitogen dari DNA ke mRNA. Gen ini memiliki peranan penting karena dalam penerjemahannya nya, gen *rpoB* yang akan memberikan instruksi kode kepada RNA polymerase untuk melakukan proses tersebut. Pada gen *rpoB* isolate *Mycobacterium tuberculosis*, Resisten rifampisin mengidentifikasi berbagai mutasi dan penghapusan atau delesi pendek di gen *rpoB*. Mutasi pada gen *rpoB* umumnya

berkaitan dengan resistensi terhadap antibiotik rifampisin, yang merupakan salah satu obat utama dalam terapi tuberkulosis (TB).

Mutasi di wilayah hotspot dari gen *rpoB*, yang dikenal sebagai Rifampicin Resistance Determining Region (RRDR), bertanggung jawab atas sebagian besar kasus resistensi rifampisin atau sebagai daerah penentu wilayah resistensi Rifampisin.. Mutasi ini biasanya melibatkan substitusi asam amino di antara kodon 507 hingga 533. Perubahan ini menyebabkan penurunan afinitas rifampisin terhadap RNA polimerase, sehingga mengurangi efektivitas antibiotik tersebut (Zhang *et al.*, 2020).

Dalam konteks *Mycobacterium tuberculosis*, mutasi yang terjadi pada gen penting seperti *rpoB* dapat menyebabkan perubahan struktur subunit β dari RNA polimerase, sehingga antibiotik rifampisin tidak dapat lagi berikatan secara efektif. Akibatnya, bakteri menunjukkan fenotip berupa resistensi terhadap rifampisin. Dengan demikian, mutasi genetik yang memengaruhi ekspresi gen secara langsung dapat berkontribusi terhadap munculnya sifat resisten yang menjadi tantangan dalam pengendalian TB. (Rahman *et al.*, 20220)

Deteksi mutasi pada gen *rpoB* dapat dilakukan melalui metode molekuler seperti PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dan uji sekuensing DNA. Teknik ini memungkinkan identifikasi cepat terhadap strain *Mycobacterium tuberculosis* yang resisten rifampisin, yang sangat penting untuk pengendalian penyebaran TB resistan (WHO, 2021).

Studi menunjukkan bahwa lebih dari 95% kasus resistensi rifampisin pada *Mycobacterium tuberculosis* disebabkan oleh mutasi di wilayah RRDR. Beberapa mutasi yang paling sering ditemukan meliputi substitusi di posisi Ser531Leu, His526Tyr, dan Asp516Val. Variasi ini dapat memengaruhi respons pengobatan dan mempersulit terapi kombinasi antibiotik (Telenti *et al.*, 2023).

Mutasi di gen *rpoB* tidak hanya menyebabkan resistensi primer tetapi juga dapat berkembang selama terapi jika pengobatan tidak tepat atau tidak diselesaikan. Oleh karena itu, pemantauan rutin melalui pengujian genetik sangat dianjurkan untuk mencegah penyebaran TB yang resisten terhadap obat (Suresh *et al.*, 2018).

Selain PCR dan sekuensing DNA, metode lain seperti Line Probe Assay (LPA) juga banyak digunakan di laboratorium klinis untuk mendeteksi mutasi *rpoB*. Metode ini memberikan hasil yang cepat dan akurat serta sangat berguna di daerah dengan beban TB tinggi (Hillemann *et al.*, 2025).

Pemahaman yang lebih dalam tentang variasi genetik pada gen *rpoB* membantu dalam pengembangan alat diagnostik yang lebih sensitif dan spesifik, serta menjadi dasar dalam penelitian pengembangan antibiotik baru yang mampu mengatasi resistensi yang disebabkan oleh mutasi ini.