

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tuberkulosis (TB) masih menjadi masalah utama kesehatan di dunia. Penyakit ini berada pada sembilan besar penyebab kematian di dunia; pada urutan pertama sebagai penyebab kematian infeksi tunggal, berada di atas *Human Immunodeficiency Virus (HIV)/Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS)* (WHO, 2017). Pada tahun 2015, diperkirakan terdapat 1,8 juta angka kematian akibat TB dan juga 10,4 juta penderita baru TB di seluruh dunia (WHO, 2016). Ada penurunan angka kematian pada laporan *World Health Organization (WHO)* tahun berikutnya, yaitu menjadi 1,7 juta jiwa (WHO, 2017).

Indonesia merupakan salah satu di antara 20 negara dengan kasus TB, TB/HIV, dan *Multidrug-Resistant Tuberculosis/Rifampicin-Resistant Tuberculosis (MDR-TB/RR-TB)* terbanyak di dunia (WHO, 2016, 2017). Indonesia berada pada peringkat ke-2 di dunia, di bawah India pada Angka Kejadian TB (WHO, 2017); peringkat ke-7 di dunia pada Angka Kejadian TB dengan HIV-positif (WHO, 2017); peringkat ke-3 di dunia di bawah India dan Nigeria pada Angka Kematian TB dengan HIV-negatif (WHO, 2017); peringkat ke-6 di dunia pada Angka Kematian TB dengan HIV-positif (WHO, 2017); dan peringkat ke-4 di dunia, di bawah India, Cina, dan Rusia pada Angka Kejadian MDR-TB/RR-TB (WHO, 2017).

Angka kematian akibat TB tanpa keterlibatan HIV di Indonesia pada tahun 2016 mencapai 42 kematian per 100.000 populasi atau total mencapai 110.000 kematian pada tahun tersebut (WHO, 2017). Bila angka kematian akibat TB dengan keterlibatan HIV dimasukkan ke dalam perhitungan di atas, maka ada penambahan lebih dari 10% (WHO, 2017). Sedangkan angka kejadian TB (termasuk di dalamnya kasus HIV+TB) pada tahun 2016 di Indonesia diperkirakan mencapai 1,02 juta jiwa (WHO, 2017).

Dalam kurun waktu 10 tahun terakhir, kasus resistensi Obat Anti Tuberkulosis (OAT) di dunia terus meningkat. Pada tahun 2016, WHO mencatat 153.119 kasus MDR/RR-TB. Namun angka ini hanya 26% dari perkiraan angka

kejadian di tahun 2016 yang mencapai 600.000 kasus. Perkiraan WHO untuk angka kejadian MDR/RR-TB di Indonesia pada tahun 2016 adalah berkisar antara 19-45 ribu kasus, dan 68% di antaranya merupakan kasus MDR-TB. Ini menempatkan Indonesia pada urutan ke-4 dari 30 negara dengan kasus MDR/RR-TB terbanyak di dunia. Kasus *Extensively-drug resistant Tuberculosis* (XDR-TB) di dunia masih tinggi, berkisar pada 6,2% dari total kasus MDR-TB; sedangkan di Indonesia terdapat 37 kasus XDR-TB (1,36% di antara kasus dikonfirmasi MDR-TB) yang telah dikonfirmasi melalui pemeriksaan laboratorium (WHO, 2017).

Epidemiologi TB di Indonesia masih berbasis pada etiologi, identifikasi faktor risiko, dan distribusi penyakit pada suatu populasi. Untuk dapat memahami lebih jauh mengenai kasus TB dan MDR/RR-TB, dibutuhkan pendalaman epidemiologi molekuler untuk menjawab berbagai pertanyaan mengenai mekanisme biologis yang mendasari patogenesis penyakit (Eyboosh dkk., 2017). Informasi yang diperoleh dari epidemiologi molekuler dapat digunakan untuk mengembangkan strategi preventif dan terapi yang lebih efektif (Eyboosh dkk., 2017). Salah satu metode untuk mempelajari epidemiologi molekuler TB adalah melalui teknik *Whole Genome Sequencing* (WGS) (Kohl dkk., 2014; Nikolayevskyy dkk., 2016).

*Whole Genome Sequencing* adalah suatu metode untuk menentukan urutan nukleotida yang tepat dari genom tertentu, yang merupakan keseluruhan material genetik dari sebuah sel atau organisme (Dewey dkk., 2014). Dengan metode tersebut dapat diperoleh sensitivitas yang tinggi, latar belakang genetik, data epidemiologi, dan indikasi risiko kontaminasi silang (Cirillo dkk., 2016). Selain itu metode ini juga memiliki kelebihan dalam membedakan episode relap atau reinfeksi (Luo dkk., 2014; Nikolayevskyy dkk., 2016; Regmi dkk., 2015a; Roetzer dkk., 2013), sekaligus memudahkan identifikasi mutasi genetik yang terkait dengan resistensi antibiotik (Ali dkk., 2015; Beckert dkk., 2012).

*Whole Genome Sequencing* berpotensi memberikan informasi lebih banyak mengenai *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). Telah diketahui bahwa WGS meningkatkan pemahaman pada patogenesis, imunologi, evolusi, dan transmisi Mtb (Lee dan Behr, 2016; Takiff dan Feo, 2015). Penggunaan WGS pada negara-negara maju dengan kasus TB yang rendah dimungkinkan untuk menjadi alat

diagnostik rutin. Namun ada kesulitan menerapkannya untuk tujuan diagnostik di negara ekonomi lemah dengan tingginya kasus TB (Pankhurst dkk., 2016). Tantangan utama penggunaan WGS sebagai alat diagnostik di negara ekonomi lemah dan tinggi kasus TB adalah faktor biaya implementasi, selain potensi memanjangnya waktu diagnosis resistensi obat (Mahomed dkk., 2017). Walaupun demikian, WGS menjadi modal analisis optimal untuk menentukan rantai transmisi Mtb (Bryant dkk., 2013; Gardy dkk., 2011; Roetzer dkk., 2013) sehingga menjadi pilihan terbaik dalam penelitian epidemiologi molekuler (Roetzer dkk., 2013).

*Whole Genome Sequencing* membutuhkan sebuah genom sebagai referensi untuk dapat menunjukkan berbagai mutasi/variasi genetik dari suatu sampel. Dalam berbagai penelitian filogeni, epidemiologi molekuler, dan deteksi mutasi yang berhubungan dengan resistensi OAT pada Mtb, genom yang paling sering digunakan sebagai referensi adalah genom *Mycobacterium tuberculosis H37Rv* (Mestre dkk., 2011; Roetzer dkk., 2013; Walker dkk., 2015). Alasan utamanya adalah karena *H37Rv* memiliki ciri fenotipe yang paling mirip dengan bakteri penyebab tuberkulosis yang ditemukan oleh Robert Koch pada tahun 1882 (Koch, 1882), ditambah dengan distribusi ke seluruh dunia dan penggunaan yang luas. Genom *H37Rv* berada di antara semua *best curated genome* spesies-spesies bakteri karena anotasi gen-gennya terhubung pada sejumlah sumber data transkriptomik dan proteomik di dunia seperti *Tuberculist* (<https://mycobrowser.epfl.ch>), KEGG (<https://www.genome.jp/kegg/>), dan *TB Database* ([http://genome.tdb.org/tbdb\\_sysbio/MultiHome.html](http://genome.tdb.org/tbdb_sysbio/MultiHome.html)) (O'Toole dan Gautam, 2017).

Terdapat beberapa penelitian yang menilai hubungan antara filogeni dan resistensi terhadap OAT serta laju mutasi *Mycobacterium tuberculosis*. Sebuah penelitian menunjukkan bahwa filogeni *Lineage 2* (L2 atau *East-Asian/Beijing*) berhubungan dengan MDR-TB (Casali dkk., 2014; Fenner dkk., 2012; Stoffels dkk., 2013). Laju mutasi yang tinggi juga ditemukan pada filogeni L2 dibandingkan filogeni lainnya, sehingga dapat menyebabkan filogeni L2 lebih cepat terjadi resistensi (Fenner dkk., 2012), dan secara khusus Ford dkk. menunjukkan laju mutasi filogeni L2 lebih tinggi dibandingkan filogeni *Lineage 4* (L4 atau *Euro-American*) (Ford dkk., 2013). Filogeni *Lineage 1* (L1 atau *Indo-Oceanic*) terbukti

kurang virulen dibandingkan filogeni lainnya (Mitchison dkk., 1960) sehingga mutasi yang menyebabkan resistensi OAT akan semakin menurunkan virulensinya (Fenner dkk., 2012). Mutasi yang menyebabkan resistensi OAT biasanya berhubungan dengan *fitness cost*; yaitu *strain* yang resisten terhadap OAT akan berkurang kemampuan kompetisinya dibandingkan *strain* yang sensitif terhadap OAT (Böttger dkk., 1998; Gagneux dkk., 2006; Sander dkk., 2002).

Beberapa penelitian epidemiologi molekuler terhadap TB telah dilakukan di Indonesia, namun hanya ada satu penelitian yang melakukan analisa WGS di Indonesia. Penelitian epidemiologi molekuler terhadap TB di Indonesia masih menunjukkan penggunaan metode *spoligotyping* sebagai metode utama menganalisis *genotipe* Mtb. Sebuah studi epidemiologi molekuler menggunakan metode *spoligotyping* pada 437 sampel DNA Mtb dari 16 ibukota provinsi untuk memetakan gambaran epidemiologi molekuler Mtb di Indonesia (Lisdawati, Gitawati, dan Sukmawati, 2010). Enam tahun berikutnya, penelitian di Sumatera Barat menunjukkan tipe-tipe *strain* Mtb dari 265 sampel menggunakan metode yang sama (Edison, 2016). Penelitian pertama dan terbaru analisis WGS di Indonesia berasal dari Bandung yang dilakukan pada 322 isolat Mtb, sebuah penelitian yang dilakukan pada rentang tahun 2012-2015 (Chaidir dkk., 2018). Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti tertarik melakukan analisis *Whole Genome Sequencing* pada *Mycobacterium tuberculosis*.

## 1.2 Rumusan Masalah Penelitian

Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti merumuskan masalah penelitian sebagai berikut:

1. Bagaimana identifikasi *strain Mycobacterium tuberculosis* dari analisis *Whole Genome Sequencing*?
2. Bagaimana gambaran variasi genetik (polimorfisme/mutasi) *Mycobacterium tuberculosis* dari analisis *Whole Genome Sequencing*?
3. Bagaimana gambaran filogeni *Mycobacterium tuberculosis* dari analisis *Whole Genome Sequencing*?
4. Bagaimana pola resistensi Obat Anti-Tuberkulosis pada setiap kelompok filogeni dari analisis *Whole Genome Sequencing*?



5. Bagaimana jumlah mutasi pada setiap kelompok filogeni *Mycobacterium tuberculosis* dari analisis *Whole Genome Sequencing*?
6. Bagaimana jumlah gen yang bermutasi pada setiap kelompok filogeni *Mycobacterium tuberculosis* dari analisis *Whole Genome Sequencing*?

### 1.3 Tujuan Penelitian

#### 1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui filogeni *Mycobacterium tuberculosis*, pola resistensi Obat Anti-Tuberkulosis, dan mutasi gen melalui analisis *Whole Genome Sequencing*.

#### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui *strain* *Mycobacterium tuberculosis* dari analisis *Whole Genome Sequencing*.
2. Mengetahui gambaran variasi genetik (polimorfisme/mutasi) *Mycobacterium tuberculosis* dari analisis *Whole Genome Sequencing*.
3. Mengetahui gambaran filogeni *Mycobacterium tuberculosis* dari analisis *Whole Genome Sequencing*.
4. Mengetahui pola resistensi Obat Anti-Tuberkulosis pada setiap kelompok filogeni dari analisis *Whole Genome Sequencing*.
5. Mengetahui jumlah mutasi pada setiap kelompok filogeni *Mycobacterium tuberculosis* dari analisis *Whole Genome Sequencing*.
6. Mengetahui jumlah gen yang bermutasi pada setiap kelompok filogeni *Mycobacterium tuberculosis* dari analisis *Whole Genome Sequencing*.

### 1.4 Manfaat Penelitian

#### 1.4.1 Bidang ilmiah

Memberikan sumbangan ilmiah tentang epidemiologi molekuler *Mycobacterium tuberculosis*.

#### 1.4.2 Terapan di bidang kesehatan

Memberikan gambaran pola resistensi OAT sebagai bahan masukan untuk menyusun strategi penanggulangan MDR/RR-TB.

### 1.4.3 Pengembangan penelitian

Sebagai sumber untuk penelitian selanjutnya dalam bidang epidemiologi molekuler *Mycobacterium tuberculosis* dan pengembangan metode *Whole Genome Sequencing*.

