

SKRIPSI

**DETEKSI MUTASI GEN *fbpA* PADA *Mycobacterium tuberculosis* DARI
PASIEN *MULTI-DRUG RESISTANT* (MDR) DI WILAYAH KOTA
MAKASSAR**

**NOER ZAKIAH DERAJAT SAM
H041 19 1035**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**DETEKSI MUTASI GEN *fbpA* PADA *Mycobacterium tuberculosis* DARI
PASIEN *MULTI-DRUG RESISTANT TUBERKULOSIS* (MDR-TB)
DI KOTA MAKASSAR**

SKRIPSI

*Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana pada
Program Studi Strata (S-1) pada Program Studi Biologi,
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin*



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

LEMBAR PENGESAHAN

DETEKSI MUTASI GEN *fbpA* PADA *Mycobacterium tuberculosis* DARI PASIEN MULTI-DRUG RESISTANT TUBERKULOSIS (MDR-TB) DI WILAYAH KOTA MAKASSAR

Disusun dan diajukan oleh:

NOER ZAKIAH DERAJAT SAM

H041191035

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Sidang yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Program Sarjana di Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin pada tanggal 3 Agustus 2023 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama



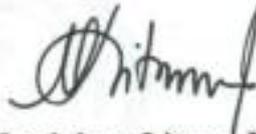
Dr. Rosana Agus, M.Si
NIP : 196509051991032003

Pembimbing Pertama



Prof. Dr. Siafaraenan, M.Si
NIP : 195808161987032001

Ketua Program Studi,



Dr. Magdalena Litaay, M.Sc
NIP : 196409291989032002

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini;

Nama : Noer Zakiah Derajat Sam

NIM : H041119035

Program Studi : Biologi

Jenjang : S-1

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Deteksi Mutasi Gen *fbpA* pada *Mycobacterium tuberculosis* Dari Pasien *Multi-Drug Resistant* Tuberkulosis (MDR-TB) Di Wilayah Kota Makassar” merupakan karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya dari orang lain yang saya pergunakan dengan cara yang melanggar hukum hak cipta, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan yang berlaku.

Makassar, 3 Agustus 2023

Yang menyatakan,



Noer Zakiah Derajat Sam

KATA PENGANTAR

Assalamu 'alaikum Warohmatullahi Wabarokatu,

Segala puji penulis panjatkan kehadirat Allah atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat dan salam senantiasa tercurahkan kepada Rasulullah Muhammad Shallallahu 'Alaihi Wasallam yang telah mengantarkan manusia dari zaman kebodohan ke zaman penuh ilmu pengetahuan seperti saat ini.

Skripsi dengan judul “Deteksi Mutasi Gen *fbpA* pada *Mycobacterium tuberculosis* Dari Pasien *Multi-Drug Resistant* Tuberkulosis (MDR-TB) Di Wilayah Kota Makassar” merupakan karya resmi pertama penulis sehingga apabila terdapat kekurangan ataupun kesalahan, penulis mohon untuk dimaklumi. Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk mencapai gelar Sarjana pada Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Selama pelaksanaan penelitian hingga penyusunan skripsi ini tentunya tidak terlepas dari beberapa kendala dan masalah. Namun berkat bantuan dari berbagai pihak, skripsi ini dapat terselesaikan. Ucapan terima kasih tiada akhir untuk kedua orang tua penulis Bapak Drs. Samrizal Pasannai dan Ibu Hj. Hamida Sam yang hari-harinya dihabiskan untuk mendoakan yang terbaik untuk penulis serta mengingatkan akan pentingnya pendidikan yang membuat penulis dapat bertahan selama masa perkuliahan. Selain itu, ucapan terima kasih juga penulis haturkan kepada saudari-saudari penulis yakni Noer Ekafitri Sam dan Noer Chadijah Lestari Sam yang telah menjadi tauladan bagi penulis untuk selalu mengutamakan

pendidikan, serta memberikan saran-saran dan pengalaman kepada penulis mengenai dunia perkuliahan sehingga penulis tidak salah dalam melangkah.

Dalam penyusunan skripsi ini, tentunya tidak lepas dari bimbingan serta saran dan kritik yang membangun dari kedua pembimbing Dr. Rosana Agus, M.Si. dan Prof. Dr. Sjafarenan, M.Si. serta Ibu penguji yakni Ibu Dr. Syahribulan, M.Si dan Ibu Mustika Tuwo, S.Si, M.Sc. Terima kasih atas ilmu dan pengetahuan serta waktu yang telah diberikan dalam penyusunan skripsi ini.

Selain itu, tersusunnya skripsi ini tidak terlepas dari doa dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Rektor Universitas Hasanuddin Bapak Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc., beserta staf.
2. Bapak Dr. Eng. Amiruddin, M.Si., selaku Dekan Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin dan kepada seluruh staf yang telah membantu penulis dalam urusan akademik dan administrasi.
3. Ibu Dr. Magdalena Litaay, M.Sc., selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Terima kasih atas ilmu, kontribusi, dan saran kepada penulis dari semester pertama hingga semester akhir ini.
4. Bapak Prof. Dr. Fahrudin, M.Si., selaku Pembimbing Akademik yang senantiasa memberikan saran-saran yang diberikan kepada Penulis dan senantiasa memberikan bimbingan akademik dari awal perkuliahan hingga akhir studi.
5. Para staf dan pegawai *Hasanuddin University Medical Research Center* Fakultas Kedokteran, yakni Kak Handayani Halik, S.Si., M.Kes., Kak Riyan

Sukma, S.Si, M.BioMed., Kak Marina Binti Ali, S.Si., dan Kak Nursamsi, S.Si selaku Pembimbing selama proses penelitian yang dengan sabar mendampingi proses penelitian sehingga penelitian dapat diselesaikan dengan baik dan masalah-masalah selama penelitian dapat diatasi.

6. Teman-teman peneliti di HUM-RC Raffi Gani, Firazh Ahmadilla Ma'ga, dan Kak Deden Wahyudi, serta Kak St. Rahmah dan Kak Wa Ode Siti Purnamasari yang telah bersama-sama melalui kendala-kendala yang dialami saat melakukan penelitian.
7. Teman-teman sesama peneliti di bidang yang sama, Muhammad Farid, Raffi Gani, Firazh Ahmadilla Ma'ga, dan Nur Fitrah Amelia yang memberikan motivasi dan senantiasa saling tolong menolong di setiap permasalahan terkait penyelesaian tugas akhir ini.
8. Teman-teman karib penulis yakni Satriani, Aurelia Salsabila, Lusiana, dan Nurul Faradhilah yang telah membantu dan mendukung, serta berbagi tawa dan tangis bersama penulis selama masa perkuliahan.
9. Teman-teman Biologi 2019, yang telah bersama-sama dalam suka duka dan berjuang bersama dari semester pertama perkuliahan dan dalam jenjang pengaderan hingga saat ini.
10. Teman-teman KMF MIPA Unhas dan Himbio FMIPA Unhas yang telah memberikan tempat pengembangan diri.
11. Teman-teman KKNT Pertanian Organik, khususnya teman-teman Posko 1 Desa Campaga yang terus memberikan dukungan kepada Penulis selama penyusunan skripsi.

Akhirnya, penulis berharap karya ini dapat memberikan manfaat kepada masyarakat demi kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi.

Wassalamualaikum Warohmatullahi Wabarokatu.

Makassar, 3 Agustus 2023

Noer Zakiah Derajat Sam

ABSTRAK

Tuberkulosis (TB) merupakan suatu penyakit yang mudah ditularkan. melalui perantaraan ludah atau dahak penderita yang mengandung bakteri *M. tuberculosis*. Bakteri ini dapat bermutasi pada gen pengkode protein yang menyebabkan resistensi obat sehingga penderita termasuk MDR-TB (*Multi-Drug Resistant Tuberculosis*). Salah satu gen pengkode proteinnnya ialah gen *fbpA* yang berperan melindungi dinding sel bakteri *M. tuberculosis*. Penelitian ini dilakukan untuk mendeteksi adanya mutasi gen *fbpA* pada pasien MDR-TB di wilayah kota Makassar yang hasilnya dapat dijadikan sebagai informasi dasar mengenai pengembangan diagnosis serta kandidat vaksin. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-Juni 2023 di Unit Tuberkulosis Hasanuddin University Medical Research Center (HUM-RC) dengan jumlah sampel sebanyak 5 sampel pasien MDR-TB. Deteksi mutasi gen dilakukan dengan metode Sanger *Sequencing* yang dianalisis dengan aplikasi BioEdit dan fitur BLAST pada laman NCBI. Hasil penelitian menunjukkan nilai *identity* mencapai 95% hingga 99% dengan *E-value* bernilai 0,0. Selain itu, berdasarkan hasil *Multiple Sequence Alignment* dapat dilihat kecocokan sekuens gen antara ke-5 sampel dengan data sekuens kontrol dari NCBI gen *fbpA*. Penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat persentase homologi yang tinggi pada sampel MDR-TB, sedangkan salah satu pasien MDR-TB mengalami mutasi.

Kata kunci: Tuberkulosis, MDR-TB, Gen *fbpA*, Mutasi gen, *Sequencing*, *Multiple Sequence Alignment*.

ABSTRACT

Tuberculosis (TB) is a disease that is easily transmitted, through the intermediary of the patient's saliva or sputum containing the bacterium M. tuberculosis. This bacterium can mutate in the protein coding gene which causes drug resistance so that patients are classified as MDR-TB (Multi-Drug Resistant Tuberculosis). One of the protein coding genes is the fbpA gene which plays a role in protecting the cell wall of M. tuberculosis bacteria. This study was conducted to detect the presence of mutations in the fbpA gene in MDR-TB patients in the Makassar city area, the results of which can be used as basic information regarding the development of diagnoses and vaccine candidates. This research was conducted in April-June 2023 at the Hasanuddin University Medical Research Center (HUM-RC) Tuberculosis Unit with a total sample of 5 MDR-TB patients. Gene mutation detection was carried out using the Sanger Sequencing method which was analyzed using the BioEdit application and the BLAST feature on the NCBI website. The results showed that the identity value reached 95% to 99% with an E-value of 0.0. In addition, based on the Multiple Sequence Alignment results, it can be seen that the gene sequences match between the 5 samples and the control sequence data from the NCBI fbpA gene. This study resulted that there was a high percentage of homology in the other MDR-TB samples, while one of the MDR-TB patients had a mutation.

Keywords: *Tuberculosis, MDR-TB, fbpA gene, gene mutation, sequencing, Multiple Sequence Alignment*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGANTAR.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Tujuan Penelitian	3
I.3 Manfaat Penelitian	3
I.4 Waktu dan Tempat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	4
II.2 Patogenitas Bakteri <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	7
II.3 Mekanisme Respon Imun terhadap Penyakit Tuberkulosis.....	8
II.4 Gejala Klinis	10
II.5 Pasien MDR-TB	11
II.6 Mutasi Gen.....	13
II.7 <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	15
II.8 Sekuensing	17
II.9 Gen <i>fbpA</i> sebagai Gen Target	18
BAB III METODE PENELITIAN.....	21
III. 1 Alat dan Bahan	21
III.1.1 Alat	21

III.1.2 Bahan Penelitian.....	21
III.2 Prosedur Kerja.....	21
III.2.1 Kriteria Sampel.....	21
III.2.2 Pengambilan Sampel Sputum.....	22
III.2.3 Dekontaminasi Sputum	22
III.2.4 Pewarnaan Ziehl-Neelson (ZN).....	23
III.2.5 Isolasi DNA.....	24
III.2.6 Amplifikasi Gen <i>fbpA</i> dengan <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	25
III.2.7 Deteksi Mutasi Gen <i>fbpA</i> dengan Metode Sanger Sekuensing	25
III.3 Analisis Data	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	27
IV.1 Dekontaminasi Sputum	27
IV. 2 Ekstraksi DNA	29
IV. 3 Amplifikasi Gen <i>fbpA</i> dengan <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	31
IV. 4 Deteksi Mutasi Gen <i>fbpA</i> dengan Metode Sanger Sekuensing	35
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	40
V.1 Kesimpulan.....	40
V.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN.....	46

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Hasil Sekuensing Pasien MDR	37

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Bakteri <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	4
2. Genom <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	6
3. Respon Imun Membentuk Formasi Granuloma dalam Alveolus.....	10
4. Tahapan dalam PCR.....	15
5. Prosedur Metode Sekuensing Sanger.....	17
6. Keberadaan Gen <i>fbpA</i>	18
7. Hasil Pewarnaan Ziehl-Neelson.....	27
8. Hasil Ekstraksi Menggunakan Kit GENE AID.....	29
9. Hasil BLAST Primer Forward Gen <i>fbpA</i>	30
10. Hasil BLAST Primer Reverse Gen <i>fbpA</i>	31
11. Hasil Visualisasi Elektroforesis Gen <i>fbpA</i>	33
12. Hasil Sekuensing Pasien MDR	36

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Skema Kerja.....	45
2. Peta Origin Antara Primer dan Gen fbpA dari GenBank.....	51
3. Hasil Sekuensing Sampel.....	52
4. Hasil BLAST Sampel.....	58
5. Komposisi Bahan	68
6. Bahan-bahan yang Digunakan	70
7. Dokumentasi Penelitian	71

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Tuberkulosis (TB) merupakan suatu penyakit yang menjadi perhatian dunia karena mudah ditularkan. Penularan penyakit TB melalui perantara ludah atau dahak penderita yang mengandung bakteri *M. tuberculosis*. Penyakit ini ditularkan oleh penderita TB aktif yang menyebar melalui droplet nuclei yang keluar saat penderita batuk ataupun bersin. Bakteri yang menyebar di udara dapat dihirup oleh orang sehat sehingga dapat menyebabkan infeksi. Hal ini disebabkan oleh kurangnya mekanisme daya tahan tubuh yang dimiliki.

WHO menyatakan bahwa TB sampai saat ini masih menjadi ancaman dan perhatian dunia. Saat ini TB termasuk 10 penyebab kematian teratas di dunia tahun 2022. Di Indonesia sendiri, TB merupakan penyakit infeksi penyebab kematian nomor satu dalam kategori penyakit menular. Pada tahun 2021, WHO melaporkan bahwa estimasi jumlah orang terdiagnosis TB secara global sebanyak 10,6 juta kasus atau naik sekitar 600.000 kasus dari tahun 2020 yang diperkirakan 10 juta kasus TB). Indonesia yang berada di posisi kedua negara dengan jumlah penderita TB terbanyak setelah India diperkirakan memiliki 969.000 kasus. Angka ini naik 17% dari tahun 2020, yaitu sebanyak 824.000 kasus.

Jumlah kasus TB paru di Kabupaten/Kota yang ditemukan sebanyak 20.388 kasus pada periode tahun 2022 hingga bulan Februari 2023 (Dinas Kesehatan Provinsi Sul-Sel, 2023). Berdasarkan data yang dihimpun dari Dinas Kesehatan Kota Makassar, daerah kota besar seperti Makassar ialah pada

tahun 2020 mencatat bahwa terdapat 3.250 kasus dan pada tahun 2021 kembali melonjak menjadi 3.911.

Pengendalian TB di dunia saat ini menghadapi tantangan yang ditimbulkan oleh penyebaran secara global strain *M. tuberculosis* yang resisten terhadap Obat Anti Tuberkulosis (OAT) standar. Di Indonesia sendiri, total pasien TB yang resisten terhadap OAT sebanyak 8.268 kasus. Hal ini menyebabkan terjadinya penyebaran *Multi-Drugs Resistant* Tuberkulosis (MDR-TB) di dunia. MDR-TB merupakan resistensi terhadap setidaknya isoniazid dan rifampisin yang merupakan dua obat anti tuberkulosis paling efektif. Resistensi terhadap obat anti tuberkulosis (OAT) terutama terjadi karena mutasi pada gen *M. tuberculosis*.

Mutasi sering disebabkan oleh inadekuatnya kadar terapeutik obat, terutama akibat ketidakpatuhan dalam proses mengkonsumsi obat yang menyebabkan terjadinya perubahan struktur gen maupun kromosom pada bakteri *M. tuberculosis*. Nugrahaeni (2015) dalam penelitiannya menyatakan bahwa resistensi dapat terjadi karena penggunaan obat yang tidak tepat dan tidak teratur, sehingga menimbulkan mutasi pada gen yang mengkode/menyandi target OAT. Salah satu gen yang mengkode/ menyandi target OAT ialah gen *fbpA* yang terdapat dalam protein Ag85A.

Bakteri *M. tuberculosis* memiliki dinding yang melimpah akan *mycolid acid* (asam mikolat), arabinogalaktan, dan peptidoglikan. Dinding sel dari bakteri *M. tuberculosis* sangat penting untuk kelangsungan hidupnya apabila tidak melekat langsung ke sel inang. Protein Ag85A yang tersusun atas gen *fbpA* berperan sebagai penyusun dinding sel sehingga inaktivasi gen Ag85A mempengaruhi *mycolate*

content dan mengubah kemampuan selubung sel Mtb, sehingga menghasilkan peningkatan kerentanan terhadap obat-obatan lini pertama (Gygli *et al.*, 2020).

Resistensi pasien MDR-TB terhadap obat-obatan lini pertama berupa isoniazid dan rifampisin disebabkan oleh ketidakteraturan dalam mengonsumsi obat-obatan yang menyebabkan gen pada bakteri *M. tuberculosis* bermutasi. Gen *fbpA* yang memiliki peran penting dalam integritas dinding sel pada bakteri diduga bermutasi sehingga diperlukan adanya penelitian ini untuk memberikan informasi mengenai adanya mutasi pada gen *fbpA* pada pasien MDR-TB.

I.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya mutasi gen *fbpA* pada pasien *Multi-Drugs Resistant* Tuberkulosis (MDR-TB) di wilayah Kota Makassar.

I.3 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai mutasi gen *fbpA* dari pasien *Multi Drug Resistant* Tuberkulosis (MDR-TB) untuk pengembangan diagnosis.

I.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-Juni 2023 di Unit Tuberkulosis Hasanuddin University Medical Research Center (HUM-RC).

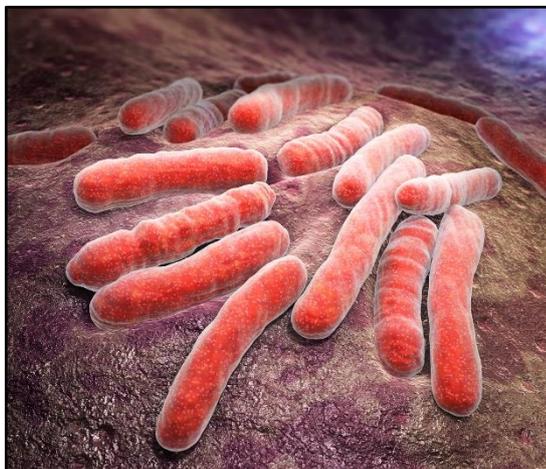
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 *Mycobacterium tuberculosis*

Penyakit infeksi adalah suatu penyakit yang diakibatkan karena adanya gangguan mikroba patogen pada tubuh manusia. *Mycobacterium tuberculosis* menjadi agen penyebab tuberkulosis yang bertanggung jawab atas jutaan kematian setiap tahunnya di dunia. *M. tuberculosis* ialah patogen bakteri intraseluler Gram positif yang menginfeksi paru paru manusia melalui rute aerosol ketika terkena droplet dari penderita (Rahman *et al.*, 2015).

Penyakit tuberkulosis (TB) merupakan penyakit infeksi kronis menular yang masih merupakan masalah kesehatan masyarakat di dunia. Indonesia menjadi salah satu negara yang berkontribusi besar dalam menyumbang kasus TB di dunia (Pangaribuan *et al.*, 2020). Di Indonesia sendiri, TB merupakan penyakit infeksi penyebab kematian nomor satu dalam kategori penyakit menular. Indonesia diperkirakan memiliki 969.000 kasus (WHO, 2022).



Gambar 1. Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*
(Koch, 2018)

TB merupakan penyakit infeksi menular yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. *Mycobacterium tuberculosis* merupakan bakteri yang sangat kuat sehingga memerlukan waktu yang lama untuk mengobatinya. Bakteri bersifat aerob ini tahan di lingkungan yang asam (Ramadhan *et al.*, 2017). Oleh sebab itu, dalam pengujiannya dilakukan pemeriksaan BTA atau Bakteri Tahan Asam yang ditandai dengan bakteri berbentuk batang yang berwarna merah (Astriani, 2017).

Klasifikasi *Mycobacterium tuberculosis* (Koch, 2018):

Kingdom : Bacteria

Filum : Actinobacteria

Class : Actinomycetes

Ordo : Actinomycetales

Family : Mycobacteriaceae

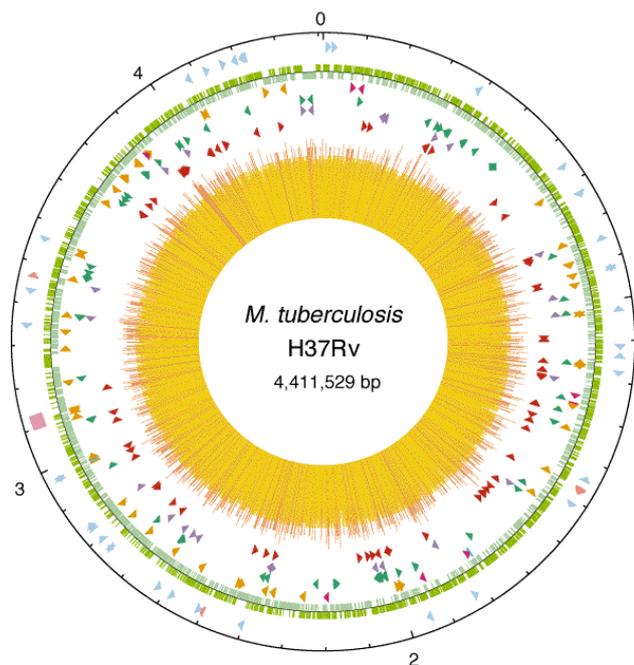
Genus : *Mycobacterium*

Spesies : *Mycobacterium tuberculosis*

M. tuberculosis merupakan bakteri Gram positif yang tidak mempunyai endospora dan kapsul, tidak motil, tahan terhadap asam, bentuk sel batang dengan ukuran 0,2-0,4 x 2-10 μm , tumbuh pada suhu 37°C dengan pertumbuhan yang lambat yaitu 2-60 hari. Genus bakteri ini mempunyai karakteristik yang unik karena memiliki dinding sel yang kaya akan lipid dan lapisan tebal peptidoglikan yang mengandung asam mikolat, arabinogalaktan, dan lipoarabinomanan. Penyusun utama dinding sel *Mycobacterium tuberculosis* adalah asam mikolat yang merupakan asam lemak berantai panjang yang dihubungkan dengan

arabinogalaktan oleh ikatan glikolipid dan peptidoglikan. Asam mikolat ini hanya dijumpai pada dinding sel bakteri genus *Mycobacterium* (Dewi *et al.*, 2017).

Sel bakteri *M. tuberculosis* berubah-ubah tergantung kondisi lingkungannya. Sel-sel menjadi lebih pendek dalam kultur yang lebih tua, berserabut dalam makrofag, dan berbentuk bulat telur saat kekurangan nutrisi. Umumnya morfologi variasi *M. tuberculosis* diklasifikasikan dalam kategori; yang sering terlihat di fase pertumbuhan eksponensial yaitu batang, V, bentuk Y, bercabang atau kuncup, dan mereka yang terlihat kadang-kadang di bawah tekanan atau kondisi lingkungan yang bulat, oval, seperti spora, dan dinding sel menantang atau bentuk-L. Perubahan morfologi ini adalah contoh menunjukkan bahwa *M. tuberculosis* tidak selalu dalam bentuk batang (Velayati, 2018).



Gambar 2. Genom dari *Mycobacterium tuberculosis* (Rinanda, 2015)

Genom *M. tuberculosis* berukuran sangat besar, yaitu 4,4 Megabasa dan terdiri dari 3920 gen. Struktur genom ini diketahui mengalami evolusi dan

pengaturan ulang yang bertujuan untuk mempertahankan gen-gen yang bersifat konstitutif (dibutuhkan untuk kelangsungan hidup) serta menghilangkan sejumlah gen yang tidak diperlukan lagi (Rinanda, 2015).

II.2 Patogenitas Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*

Seseorang yang menghirup droplet nuclei dari penderita TB aktif akan menyebabkan bakteri tersebut masuk ke alveoli melalui jalan nafas, alveoli adalah tempat bakteri berkumpul dan berkembang biak. *M. tuberculosis* juga dapat masuk ke organ lain seperti ginjal, tulang, dan korteks serebri dan area lain dari paru-paru (lobus atas) melalui sistem limfa dan cairan tubuh. Daya penularan dari penderita ditentukan oleh banyaknya bakteri yang dikeluarkan dari paru-paru penderita. Individu yang menghirup tidak langsung terinfeksi, bakteri dapat bersifat dorman.

Masuknya bakteri TB ini akan segera diatasi oleh mekanisme imunologis non spesifik. Makrofag yang berada di alveolus akan menfagosit kuman TB dan biasanya sanggup menghancurkan sebagian besar bakteri TB. Namun, pada sebagian kecil kasus, ketika makrofag tidak mampu menghancurkan bakteri TB maka bakteri akan bereplikasi dalam makrofag. Bakteri TB dalam makrofag yang terus berkembang biak, akhirnya akan membentuk koloni di tempat tersebut (Mar'iyah & Zulkarnain, 2021).

Lokasi pertama koloni kuman TB di jaringan paru disebut Fokus Primer Gohn. Dari fokus primer, kuman TB menyebar melalui saluran limfe menuju kelenjar limfe regional, yaitu kelenjar limfe yang mempunyai saluran limfe ke lokasi fokus primer. Penyebaran ini menyebabkan terjadinya inflamasi di saluran limfe (limfangitis) dan di kelenjar limfe (limfadenitis) yang terkena. Jika fokus primer terletak di lobus paru bawah atau tengah, kelenjar limfe yang akan terlibat

adalah kelenjar limfe parahilus, sedangkan jika fokus primer terletak di apeks paru, yang akan terlibat adalah kelenjar paratrakeal (Sobur, 2020).

Kompleks primer merupakan gabungan antara fokus primer, kelenjar limfe regional yang membesar (limfadenitis) dan saluran limfe yang meradang (limfangitis). Waktu yang diperlukan sejak masuknya bakteri TB hingga terbentuknya kompleks primer secara lengkap disebut sebagai masa inkubasi TB. Hal ini berbeda dengan pengertian masa inkubasi pada proses infeksi lain, yaitu waktu yang diperlukan sejak masuknya bakteri hingga timbulnya gejala penyakit. Masa inkubasi TB biasanya berlangsung dalam waktu 4-8 minggu dengan rentang waktu antara 2-12 minggu. Dalam masa inkubasi tersebut, bakteri tumbuh hingga mencapai jumlah 10^3 - 10^4 , yaitu jumlah yang cukup untuk merangsang respons imunitas seluler.

Individu yang memiliki imunitas lemah seperti pasien HIV dan diabetes melitus serta malnutrisi terjadi penyebaran kompleks Ghon yang dapat menyebabkan hancurnya jaringan sekitar yang berujung pada nekrosis perkijuan berupa sel jaringan menjadi lembek seperti keju yang dapat membuat otak merangsang batuk, sehingga membuat pembuluh darah pecah sehingga batuk darah terjadi (Mar'iyah & Zulkarnain, 2021).

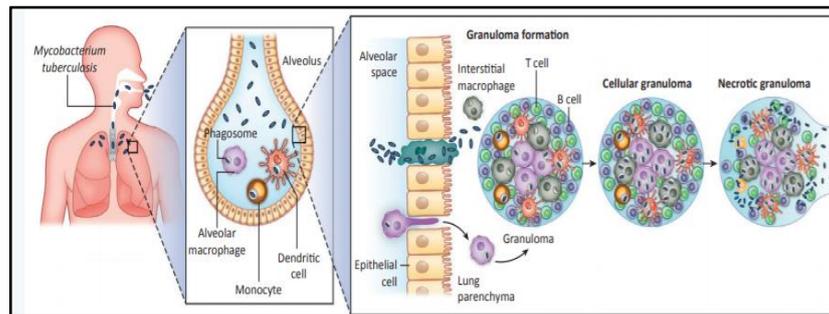
II.3 Mekanisme Respon Imun terhadap Penyakit Tuberkulosis

Seseorang yang merupakan penderita TB aktif ketika bersin, batuk, bahkan berbicara dapat menyebabkan penularan apabila orang lain menghirup droplet nuclei yang mengandung bakteri *M. tuberculosis*. Bakteri tersebut masuk ke alveoli melalui jalur pernafasan, alveoli adalah tempat bakteri berkumpul dan berkembang biak. *M. tuberculosis* juga dapat masuk ke bagian tubuh lain seperti ginjal, tulang,

dan korteks serebri dan area lain dari paru-paru (lobus atas) melalui sistem limfa dan cairan tubuh. Sistem imun dan sistem kekebalan tubuh akan merespon dengan cara melakukan reaksi inflamasi. Fagosit menekan bakteri, dan limfosit spesifik tuberkulosis menghancurkan (melisiskan) bakteri dan jaringan normal. Infeksi awal biasanya timbul dalam waktu 2-10 minggu setelah terpapar bakteri (Kenedyanti & Sulistyorini, 2017).

Interaksi antara *M. tuberculosis* dengan sistem kekebalan tubuh pada masa awal infeksi membentuk granuloma. Granuloma terdiri atas gumpalan basil hidup dan mati yang dikelilingi oleh makrofag. Granulomas diubah menjadi massa jaringan jaringan fibrosa, bagian sentral dari massa tersebut disebut Ghon tuberculosis dan menjadi nekrotik membentuk massa seperti keju. Hal ini akan menjadi klasifikasi dan akhirnya membentuk jaringan kolagen kemudian bakteri menjadi dorman.

Setelah infeksi awal, seseorang dapat mengalami penyakit aktif karena gangguan atau respon yang inadkuat dari respon sistem imun. Penyakit dapat juga aktif dengan infeksi ulang dan aktivasi bakteri dorman dimana bakteri yang sebelumnya tidak aktif kembali menjadi aktif. Pada kasus ini, ghon tubrcle memecah sehingga menghasilkan necrotizing caseosa di dalam bronkhus. Bakteri kemudian menjadi tersebar di udara, mengakibatkan penyebaran penyakit lebih jauh. Paru yang terinfeksi menjadi lebih membengkak, menyebabkan terjadinya bronkopneumonia lebih lanjut (Sigalingging *et al.*, 2019).



Gambar 3. Respon Imun Membentuk Formasi Granuloma dalam Alveolus (Koch & Mizrahi, 2018)

II.4 Gejala Klinis

Gejala sistemik/umum yang dirasakan oleh penderita TB ialah batuk-batuk selama lebih dari 3 minggu (dapat disertai dengan darah, batuk darah), demam tidak terlalu tinggi yang berlangsung lama, biasanya dirasakan saat malam hari disertai keringat malam. Kadang-kadang dapat terkena serangan demam seperti influenza yang bersifat hilang timbul, penurunan nafsu makan dan berat badan, perasaan tidak enak (malaise), lemah.

Adapun gejala khususnya ialah tergantung dari organ tubuh mana yang terkena, bila terjadi sumbatan sebagian bronkus (saluran yang menuju ke paru-paru) akibat penekanan kelenjar getah bening yang membesar, akan menimbulkan suara “mengi”, suara nafas melemah yang disertai sesak, kalau ada cairan dirongga pleura (pembungkus paru-paru), dapat disertai dengan keluhan sakit dada. Bila mengenai tulang, maka akan terjadi gejala seperti infeksi tulang yang pada suatu saat dapat membentuk saluran dan bermuara yang mengeluarkan cairan nanah. Selain itu, gejala TB pada tulang juga dapat menyebabkan terjadinya anoreksia yang dapat memicu turunnya berat badan (Dewi *et al.*, 2020). Gejala-gejala ini dapat berakibat fatal apabila patogen yang berada di dalam tubuh tidak segera diatasi, maka diperlukan pengobatan standar untuk TB.

II.5 Pasien MDR-TB

Pengobatan standar untuk TB yang rentan terhadap obat terdiri isoniazid dan rifampisin yang merupakan dua obat anti TB yang paling efektif setidaknya dijumpai resistensinya pada kasus MDR-TB. Respon terhadap pengobatan standar ini menunjukkan variabilitas antar pasien, bahkan di antara pasien yang terkonfirmasi TB yang rentan terhadap obat. Hal yang penting dari respons terhadap pengobatan adalah waktu untuk konversi kultur (yaitu, waktu dari inisiasi pengobatan ke yang pertama dari dua berturut-turut), yang bervariasi antar pasien, dengan interval kepercayaan 95% berkisar antara 41 hingga 83 hari (Aristiana & Wartono, 2018).

Kelangsungan hidup mikobakteri sangat tergantung pada kemampuannya untuk merespon gangguan dengan cepat. Beberapa jalur biologis yang saling berhubungan akan menyebabkan munculnya keadaan toleran terhadap obat. Di bawah tekanan obat, ekspresi ratusan gen *M. tuberculosis* bermutasi, sehingga regulasi gen transkripsi dan pascatranskripsi akan menghasilkan fenotipe *M. tuberculosis* yang toleran (Goosens *et al.*, 2021).

Mekanisme utama terbentuknya fenotipe yang toleran terhadap obat pada *M. tuberculosis* yakni perlambatan metabolisme dengan mengurangi metabolisme dan laju pertumbuhan,; perubahan metabolisme, yang terdiri dari mengubah rute fluks metabolit sebagai pendekatan untuk mempertahankan homeostasis ketika jalur spesifik ditargetkan oleh obat antibiotik; penebalan dinding sel, yang mengurangi konsentrasi obat dalam sel mikobakteri; dan peningkatan regulasi pompa penghabisan, yang meningkatkan pembersihan antibiotik dari sel mikobakteri (Goosens *et al.*, 2021).

Sebagian besar pasien sembuh dan telah bebas dari TB setelah menyelesaikan regimen pengobatan 6 bulan, beberapa pasien kambuh bahkan apabila telah sepenuhnya patuh terhadap pengobatan. Sampai saat ini, variabilitas dalam resistensi pengobatan dikaitkan dengan perbedaan host, faktor-faktor seperti jumlah mikobakteri awal, adanya lesi kavitas, infeksi HIV, dan gaya hidup yang tidak sehat seperti merokok. Selain faktor inang ini, heterogenitas populasi mikobakteri juga dapat berkontribusi pada variabilitas antar pasien yang diamati dalam tanggapan pengobatan (Juliando, 2017).

Seperti yang telah diketahui bahwa pasien *Multi Drug Resistant Tuberculosis* (MDR-TB) merupakan pasien yang resisten terhadap dua obat yakni isoniazid dan rifampisin. Adapun mekanisme isoniazid (INH) dalam melawan bakteri *M. tuberculosis* ialah INH akan memasuki sitoplasma *M. tuberculosis* melalui difusi pasif sederhana dan hanya membunuh bakteri yang aktif membelah; tidak ada pembunuhan yang terjadi ketika mikobakteri berada dalam fase dorman atau tumbuh dalam kondisi anaerob. INH akan bersifat bakteristatik selama 24 jam pertama pengobatan *M. tuberculosis*, setelah itu bakterisida. Efek INH pada mikobakteri adalah hilangnya ketahanan asam yang dihasilkan dari penghambatan sintesis asam mikolat (MA). MA merupakan rantai yang sangat panjang, β -tak jenuh, bercabang asam lemak, yang mengakibatkan impermeabilitas selubung sel. Hal ini menyebabkan asam mikolat dianggap sebagai target selektif untuk obat anti-TB seperti isoniazid dan rifampisin. Struktur dari dinding sel yang mengandung mikolat sehingga permeabilitas rendah terhadap beragam antibiotik.

Mekanisme resistensi bakteri terhadap INH disebabkan oleh adanya mutasi pada sejumlah gen, yaitu *katG*, *inhA* dan *ahpC*. Gen *katG* berperan dalam

mengkode enzim katalase-peroksidase yang dibutuhkan untuk mengaktivasi Isoniazid (INH) yang masuk ke dalam tubuh sebagai pro-drug. Dalam mekanisme kerjanya INH menghambat biosintesis asam mikolat sehingga bakteri menjadi rentan terhadap paparan radikal bebas dan faktor lingkungan lainnya. Dalam mekanisme kerja menghambat sintesis asam mikolat, INH yang teraktivasi menghambat enzim NADH-dependent enoyl-ACP reductase yang dikode oleh gen *inhA*. Gen *ahpC* berperan dalam mengkode enzim alkyl hydroperoxidase reductase yang menyebabkan bakteri resisten terhadap radikal bebas berupa oksigen dan nitrogen bebas (Rinanda, 2015).

Adapun pada rifampisin bekerja dengan berikatan pada sub unit β -DNA polymerase. Karakteristik rifampisin adalah kemampuan untuk bekerja membunuh bakteri yang tumbuh dengan aktif maupun tidak. Mutasi yang terjadi pada gen *rpoB* akan merubah struktur sub unit beta sehingga Rifampisin kehilangan *site of action*. Mutasi umumnya terjadi pada 81 pasang basa di daerah inti (*core*) yang disebut *Rifampicin Resistance determining Region* (RRDR) dan biasanya berupa perubahan nukleotida tunggal yang akan mengakibatkan perubahan susunan asam amino. Mutasi berupa delesi inframe serta insersi juga dapat terjadi pada frekuensi yang lebih rendah pada jenis bakteri mikobakterium (Rinanda, 2015). Mutasi pada gen yang terdapat pada bakteri *M. tuberculosis* menyebabkan obat-obatan tahap lini pertama tidak berfungsi dengan optimal.

II.6 Mutasi Gen

Perubahan sifat keturunan disebabkan oleh terjadinya mutasi. Mutasi adalah perubahan materi genetik suatu sel yang diwariskan kepada keturunannya. Mutasi dapat disebabkan oleh kesalahan replikasi materi genetika selama pembelahan sel

oleh radiasi, bahan kimia (mutagen), atau virus, atau dapat terjadi selama proses meiosis. Tetapi ada juga mutasi yang tidak jelas mutagennya, yang diperkirakan hanya karena suatu kealpaan atau kekeliruan suatu proses metabolisme dalam sel. Hal ini terjadi karena adanya ilmu kemungkinan (*probability*). Mutasi pada gen dapat mengarah pada munculnya alel baru dan menjadi dasar bagi kalangan pendukung evolusi mengenai munculnya variasi-variasi baru pada spesies (Wardamawati, 2017).

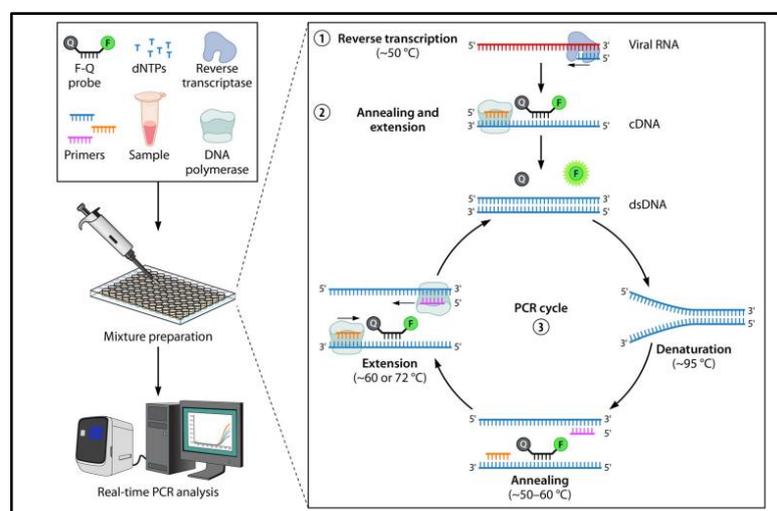
Penyebaran secara global strain *Mycobacterium tuberculosis* yang resisten terhadap obat anti tuberkulosis (OAT) standar disebabkan oleh adanya mutasi pada gen yang terdapat pada bakteri tersebut. Hal ini menyebabkan timbulnya penyebaran *Multi Drugs Resistant Tuberculosis* (MDR-TB). Isoniazid dan rifampisin adalah dua obat anti TB yang paling efektif yang setidaknya dijumpai resistensinya pada kasus MDR-TB. Adanya mutasi pada gen *M. tuberculosis* menjadi penyebab terjadinya resistensi terhadap OAT yang disebabkan karena tidak memadainya kadar terapeutik obat, terutama akibat ketidakpatuhan dalam konsumsi obat. Konsumsi obat yang tidak tepat dan tidak teratur diduga sebagai penyebab terjadinya resistensi, sehingga menimbulkan mutasi pada gen yang mengkode/menyandi target OAT.

Mycobacterium tuberculosis mengembangkan mekanisme resistensi yang berbeda dengan bakteri lain pada umumnya. Pada prokariot, resistensi umumnya disebabkan karena adanya transfer materi genetik, baik melalui plasmid, transposon dan lain-lain. Pada *M. tuberculosis*, resistensi dipicu oleh adanya mutasi yang terjadi secara spontan pada gen kromosomal. Resistensi hanya akan menguntungkan bakteri pada saat terpapar dengan obat target. Pada paparan OAT

yang tidak adekuat, bakteri yang sensitif akan mati dan mutan akan berkembang biak dengan pesat tanpa adanya persaingan yang berarti dalam hal nutrisi. Tuberkulosis pada kasus MDR cenderung akan berkembang menjadi kasus kronik dan kondisi ini semakin mempermudah penyebaran *M. tuberculosis* galur MDR. Mutasi terhadap OAT terjadi 10^{-9} kali per pembelahan sel. Oleh sebab itu OAT diberikan secara kombinasi untuk memperkecil kemungkinan terjadinya mutasi hingga 10^{-18} per pembelahan sel (Rinanda, 2015).

II.7 Polymerase Chain Reaction (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah suatu metode enzimatik untuk amplifikasi DNA dengan cara *in vitro*. Pada proses PCR diperlukan beberapa komponen utama, yaitu DNA cetakan, Oligonukleotida primer, Deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP), enzim DNA Polimerase, dan komponen pendukung seperti senyawa buffer. Pada proses PCR menggunakan menggunakan alat termosiklus, sebuah mesin yang memiliki kemampuan untuk memanaskan serta mendinginkan tabung reaksi untuk tiap reaksi (Setyawati & Zubaidah, 2021).



Gambar 4. Tahapan dalam proses PCR (Tali *et al.*, 2021)

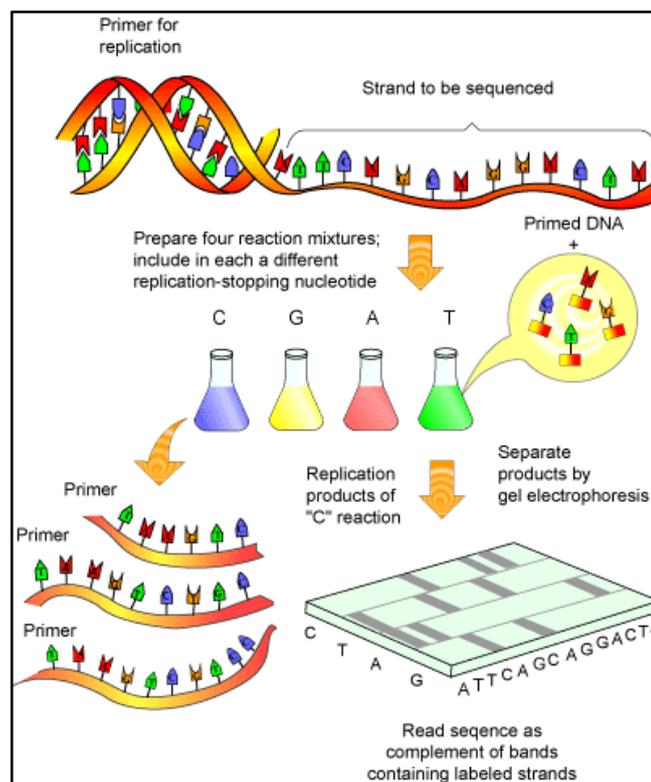
Ada tiga tahapan penting dalam proses PCR yang selalu terulang dan berlangsung dengan cepat yaitu, denaturasi, *annealing* dan *extention*. Siklus yang digunakan saat berlangsungnya PCR berbeda-beda bergantung pada gen yang menjadi target amplifikasi (perbanyakkan). Denaturasi DNA merupakan proses pembukaan DNA untai ganda menjadi DNA untai tunggal. Ini biasanya berlangsung sekitar 3 menit pada suhu yang tinggi yakni sekitar 92-97°C, untuk memastikan bahwa molekul DNA terdenaturasi menjadi DNA untai tunggal. Adapun waktu denaturasi yang terlalu lama dapat mengurangi aktifitas enzim Taq polymerase.

Tahapan berikutnya ialah *annealing* (penempelan primer). Waktu *annealing* yang biasa digunakan dalam PCR adalah 30-45 detik. Semakin panjang ukuran primer, semakin tinggi temperaturnya. Kisaran temperatur penempelan yang digunakan adalah antara 36°C sampai dengan 72°C, namun suhu yang biasa dilakukan itu adalah antara 50-60°C.

Tahap selanjutnya ialah pemanjangan primer (*extention*), selama tahap ini Taq polymerase memulai aktivitasnya memperpanjang DNA primer dari ujung 3'. Kecepatan penyusunan nukleotida oleh enzim tersebut pada suhu 72°C diperkirakan 35-100 nukleotida/detik, bergantung pada buffer, pH, konsentrasi garam dan molekul DNA target. Dengan demikian untuk produk PCR dengan panjang 2000 pasang basa, waktu 1 menit sudah lebih dari cukup untuk tahap perpanjangan primer ini. Biasanya di akhir siklus PCR waktu yang digunakan untuk tahap ini diperpanjang sampai 5 menit sehingga seluruh produk PCR diharapkan terbentuk DNA untai ganda.

II.8 Sekuensing

Sekuensing merupakan kata yang mengacu pada metode yang digunakan untuk menentukan urutan nukleotida berupa adenin, guanin, sitosin dan timin yang berada dalam molekul DNA. Metode ini menggunakan urutan nukleotida spesifik yang telah dimodifikasi yaitu *dideoxy nucleotide* (ddNTP) yang kehilangan oksigen pada 3'. Hal ini menyebabkan proses pemanjangan untai DNA terhenti. Dalam penggunaan metode ini dibutuhkan sampel DNA/*template*, primer, DNA polymerase, dNTP (dATP, dTTP, dCTP, dan dGTP), dan ddNTP (ddATP, ddTTP, ddCTP, dan ddGTP).



Gambar 5. Prosedur Metode Sanger Sekuensing (Antal *et al.*, 2014)

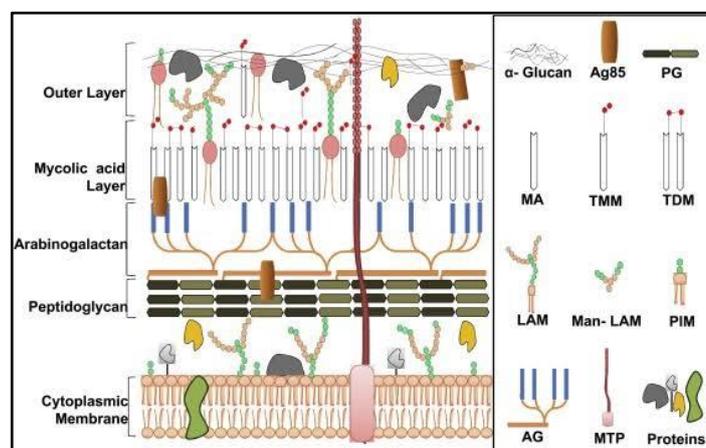
Prosedur sekuensing metode Sanger diawali dengan pembagian templat DNA menjadi empat reaksi pengurutan yang terpisah dan mengandung primer,

polimerase dan nukleotida. Pada setiap reaksi terdapat sejumlah kecil salah satu dari empat nukleotida termodifikasi (yang tidak memiliki 3'- Gugus OH yang diperlukan untuk ekstensi), yang digabungkan secara acak ke dalam untaian template, mengakhiri pemanjangan DNA dan menghasilkan fragmen DNA dengan berbagai panjang.

Fragmen DNA yang diperoleh kemudian dipisahkan berdasarkan ukurannya dengan menggunakan elektroforesis gel poliakrilamida resolusi tinggi dengan masing-masing dari empat reaksi berjalan di salah satu dari empat jalur individu (jalur A, C, G dan T). Pita DNA yang sesuai dengan fragmen DNA dengan panjang berbeda kemudian divisualisasikan, menggunakan auto-radiografi sinar UV atau sinar-X, dan urutan nukleotida dapat ditentukan sesuai dengan posisi pada pita DNA di antara empat jalur yang berbeda (Narimani dan Hosseinkhan, 2013).

Pengaplikasian sekunsing DNA sangat diperlukan dalam penelitian dasar yang mempelajari proses biologis, seperti diagnosis dan deteksi mutasi pada suatu gen. Dengan melihat sekuens DNA, dapat diketahui urutan spesifik pada suatu gen.

II.9 Gen *fbpA* sebagai Gen Target



Gambar 6. Keberadaan Gen *fbpA* (AG85)
(Vinod *et al.*, 2020)

Dinding sel mikobakteri terdiri dari tiga bagian (kapsul, dinding sel dan membran sel). Kapsul luar terdiri dari protein, glukosa dan sedikit lemak. Dinding sel terdiri dari *mycomembrane* luar (MM), *arabinogalactan* (AG) dan *inner peptidoglycan* (PG). *Mycomembrane* luar (MM) memiliki dua lapisan, bagian luar terdiri dari lipid seperti fosfolipid, *trehalose mycolates*, *glycopeptidolipids*, *lipoglycans* dan lapisan bagian dalam tersusun dari *long chain mycolic acid* (MA).

Protein antigen 85 (FbpA, FbpB, FbpC) bertanggung jawab atas afinitas tinggi mikobakteri terhadap fibronektin, suatu glikoprotein yang berfungsi sebagai perekat, yang memfasilitasi perlekatan *M. tuberculosis* ke *murine alveolar macrophages* (AMs) yang terdapat di dalam alveoli. Protein ini juga membantu menjaga integritas dinding sel dengan mengkatalisis transfer asam mikolat ke arabinogalactan dinding sel, dan melalui sintesis alpha, alpha-trehalose dimycolate (TDM, cord factor). Dapat mengkatalisis transfer residu mikolil dari satu molekul alfa, alfa-trehalosa monomikolat (TMM) ke TMM lain, yang mengarah pada pembentukan TDM. FbpA memediasi pembentukan triasilgliserol (TAG) dengan asil-KoA rantai panjang sebagai donor asil dan 1,2-dipalmitoil-sn-gliserol (1,2-dipalmitin) sebagai akseptor asil (Uniprot, 2022).

Kompleks Ag85 merupakan fraksi utama protein ekskresi filtrat kultur *M. tuberculosis* yang berpotensi meningkatkan proteksi terhadap TB. Protein ini terdapat pada permukaan dinding sel dan dibutuhkan untuk kelangsungan hidup *M. tuberculosis* di dalam makrofag (Kuo *et al.*, 2013).

Kompleks antigen 85 (Ag85A, Ag85B, Ag85C) memiliki aktivitas enzim mikolil transferase yang terlibat dalam jalur asam mikolat ke arabinogalaktan dari dinding sel dan diperlukan untuk biogenesis pada faktor tali pusat (trehalosa-

dimikolat). Protein ini berkontribusi pada perlekatan *M. tuberculosis* ke sel inang melalui makrofag yang terdapat pada alveoli dan dapat mempertahankan kelangsungan hidup *M. tuberculosis* di bagian intraseluler sel inang (Launois *et al.*, 2011; Piubelli *et al.*, 2013; Zarif *et al.*, 2013).

Protein Ag85A, Ag85B, dan Ag85C masing-masing dikodekan oleh gen *fbpA*, *fbpB*, serta gen *fbpC*. Protein antigen 85 yang disekresikan bersifat imunogenik dan diekspresikan secara terus menerus oleh *M. tuberculosis* dan dapat merangsang respon sel B dan sel T. Sel T dapat mengaktifkan sistem imunitas seluler dan humoral melalui pelepasan sitokin dan mengaktifkan sel makrofag, sel NK, sel DC dan sel Tc digunakan untuk menghancurkan sel yang terinfeksi *M. tuberculosis* intraseluler (Jiang *et al.*, 2015; Fihiruddin *et al.*, 2020).

Dari hasil beberapa penelitian sel bakteri *M. tuberculosis* yang diperoleh dari sampel isolat klinik, pada *E. coli* BL21 (DE3) *competent cells*, menghasilkan protein dengan berat molekul 48-kDa and 46-kDa. Penelitian ini menemukan tujuh epitope spesifik sel T, Hasil ini menunjukkan bahwa gen *fbpA* memiliki epitope spesifik sel T yang lebih banyak dibandingkan kompleks Ag85 lainnya, sehingga perlekatan inang lebih mungkin dilakukan sebab banyaknya epitope yang ada.