

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tuberkulosis (TB) merupakan salah satu masalah kesehatan global yang mendesak, dengan dampak sosial dan ekonomi yang signifikan. Pada tahun 2023, Tuberkulosis (TB) kembali menjadi penyebab utama kematian akibat penyakit menular di dunia, melampaui COVID-19. TB juga tercatat sebagai penyebab kematian tertinggi pada penderita HIV dan berkontribusi signifikan terhadap kematian terkait resistensi antimikroba (World Health Organization 2024).

Pada tahun 2023, diperkirakan 10,8 juta orang menderita TB di seluruh dunia, dengan proporsi 55% laki-laki, 33% perempuan, dan 12% anak-anak serta remaja, dimana 6,1% di antaranya adalah penderita HIV. Tingkat insiden TB (kasus baru per 100.000 populasi per tahun) mengalami peningkatan sebesar 4,6% antara tahun 2020 dan 2023, membalikkan tren penurunan sekitar 2% per tahun yang terjadi antara 2010 dan 2020. Secara global, TB menyebabkan sekitar 1,25 juta kematian pada tahun 2023, termasuk 161.000 penderita HIV, menurun dari perkiraan 1,32 juta kematian pada tahun 2022. Jumlah kasus TB baru yang terdiagnosis tahun 2023 mencapai 8,2 juta, meningkat dari 7,5 juta pada tahun 2022, jauh di atas level 5,8 juta pada tahun 2020 dan 6,4 juta pada tahun 2021. Peningkatan ini kemungkinan mencakup akumulasi kasus yang berkembang pada tahun-tahun sebelumnya namun tertunda diagnosisnya akibat gangguan terkait COVID-19. Secara global, diperkirakan 400.000 orang mengalami TB yang resisten terhadap berbagai obat atau resisten rifampisin (MDR/RR-TB) pada tahun 2023. Sebanyak 175.923 orang terdiagnosis dan memulai pengobatan MDR/RR-TB, sedikit menurun (1,1%) dari 177.912 kasus pada tahun 2022 dan masih di bawah level pra-pandemi sebesar 181.533 kasus pada tahun 2019. Tingkat keberhasilan pengobatan pada tahun 2023 bertahan di angka 88% untuk TB yang sensitif terhadap obat dan meningkat menjadi 68% untuk MDR/RR-TB (World Health Organization 2024).

Indonesia menghadapi beban TB yang signifikan pada tahun 2021, dengan estimasi 969.000 kasus (354 per 100.000 penduduk), termasuk 22.000 kasus TB-HIV (8,1 per 100.000 penduduk). Angka kematian mencapai 144.000 kasus untuk TB (52 per 100.000 penduduk) dan 6.500 kasus untuk TB-HIV (2,4 per 100.000 penduduk). Meskipun tren insiden TB dan angka kematian menunjukkan



selama periode 2000-2020, terjadi peningkatan signifikan pada TB meningkat 18% dari 819.000 kasus (301 per 100.000 penduduk) menjadi 969.000 kasus (354 per 100.000 penduduk) pada tahun 2021. Angka kematian mencapai 144.000 kasus untuk TB (52 per 100.000 penduduk) dan 6.500 kasus untuk TB-HIV (2,4 per 100.000 penduduk). Meskipun tren insiden TB dan angka kematian menunjukkan, angka TB juga meningkat 55%, dari 93.000 menjadi 144.000 kasus. Estimasi kasus, 724.309 kasus (75%) ternotifikasi pada tahun 2021, sementara 24% kasus yang belum terjangkau, terdeteksi, atau dilaporkan.

Kasus TB MDR/RR meningkat 17% dari 24.000 pada 2020 menjadi 28.000 pada 2021, dengan tingkat penemuan kasus mencapai 12.531 (51%) (Kemenkes 2023).

Tingginya angka kematian terkait dengan infeksi TB meskipun penggunaan vaksin BCG sudah tersebar merata. Ini menimbulkan urgensi baru untuk pengembangan vaksin TB. Vaksin *Bacillus Calmette–Guérin* (BCG) merupakan satu-satunya vaksin TB yang ada saat ini. Studi meta-analisis menyatakan vaksin tersebut dapat mencegah terjadinya penyakit TB berat pada anak-anak (Trunz, Fine, and Dye 2006). Namun, vaksin ini hampir tidak efektif melawan TB paru pada orang dewasa. Sebagai vaksin hidup yang dilemahkan, BCG mengandalkan replikasi dan persistensi untuk menginduksi imunitas. Respon imun reaktivitas silang akibat paparan *Nontuberculosis Mycobacteria* (NTM) telah terbukti menghambat replikasi BCG dan menurunkan efikasinya. Hal ini dianggap bertanggung jawab atas efek minimal revaksinasi BCG pada studi pre-klinik sebelumnya. Oleh karena itu, pengembangan vaksin tuberkulosis baru yang lebih efektif sangat diperlukan (Woodworth et al. 2021).

Dalam beberapa tahun terakhir, penelitian yang sedang berlangsung menghasilkan lebih dari 16 kandidat vaksin TB yang menjanjikan dengan strategi yang berbeda seperti vaksin penguat vektor virus atau protein adjuvan serta vaksin primer dan vaksin terapeutik (Homolka, Ubben, and Niemann 2016). Salah satu kandidat fase klinis III adalah vaksin M72/AS01E yang dikembangkan untuk meningkatkan respons imun yang diinduksi oleh BCG atau *Mycobacterium tuberculosis* (Tait et al. 2019a). M72 terdiri dari antigen Mtb72F yang dimodifikasi dan adjuvan AS01E yang mengandung stimulan imun yang berbeda (Leroux-Roels et al. 2013). Mtb72F terdiri dari dua subunit protein yang dikodekan oleh **Rv1196 (ppE18, mtb39a)** dan **Rv0125 (pepA, mtb32a)** (Von Eschen et al. 2009). Meskipun Mtb72F/AS01E menunjukkan hasil yang menjanjikan di model hewan yang beragam, efektivitas kandidat vaksin berpotensi terkendala oleh polimorfisme DNA pada gen ppE18 (Hebert et al. 2007).

Polimorfisme adalah aspek khusus dari variasi genetik. Istilah ini mengacu pada keberadaan dalam populasi yang sama dari dua atau lebih bentuk alternatif fenotipe yang berbeda (Singh and Kulathinal 2013). Polimorfisme atau variasi dalam sekuens DNA dapat mempengaruhi fenotipe individu seperti warna kulit atau mata, kerentanan terhadap penyakit, dan respons terhadap obat, vaksin, bahan kimia, dan patogen. Polimorfisme terjadi lebih sering dibandingkan mutasi (frekuensi $\geq 1\%$). Jenis polimorfisme yang paling umum adalah polimorfisme nukleotida tunggal (SNP), yang merupakan perubahan basa tunggal dalam sekuens DNA dan paling sering ditemukan dalam genom manusia. SNP telah



Beberapa penelitian sebelumnya menyimpulkan bahwa genom *M. tuberculosis* relatif stabil dan memiliki lebih sedikit polimorfisme dibandingkan dengan genom bakteri lain (Fleischmann et al. 2002). Namun, studi genomik komparatif terbaru dari isolat klinis *M. tuberculosis* telah mengungkapkan variasi genetik dengan implikasi biologis (Filliol et al. 2006). Berkaitan dengan pengembangan vaksin baru, penelusuran keragaman genetik gen target sangat diperlukan untuk mendapatkan efikasi vaksin yang maksimal (Homolka, Ubben, and Niemann 2016). Indonesia memperlihatkan tingkat keragaman genetik yang tinggi pada strain-strain *M. tuberculosis*, dengan berbagai wilayah yang menunjukkan prevalensi genotipe spesifik yang berbeda-beda (Lisdawati et al. 2015).

Polimorfisme genetik yang diamati pada Rv1196 dan Rv0125 merupakan tantangan sekaligus peluang. Meskipun tingginya variabilitas sekuens dapat menimbulkan risiko bagi efektivitas vaksin pada berbagai strain *M. tuberculosis*, hal ini juga menunjukkan bahwa antigen tersebut dapat diadaptasi untuk memicu respons imun yang memberikan perlindungan lebih luas. Penelitian menunjukkan bahwa SNP tertentu dalam gen-gen ini dapat menyebabkan variasi pada epitop sel T, yang dapat meningkatkan kemampuan vaksin dalam menargetkan berbagai strain bakteri (Hebert et al. 2007; Homolka, Ubben, and Niemann 2016). Kemampuan adaptasi ini sangat penting mengingat distribusi global TB dan keberadaan berbagai strain dengan latar belakang genetik yang beragam. Kedua protein tersebut memainkan peran penting dalam patogenesis *M. tuberculosis*. Rv1196 (PPE18) merupakan bagian dari keluarga protein yang terlibat dalam penghindaran sistem imun, sementara Rv0125 (PepA) berperan dalam mekanisme kelangsungan hidup bakteri dalam sel inang (Kapopoulou A, Lew JM, and Cole ST 2011). Peran mereka dalam patogenesis tidak hanya menjadikannya target yang relevan untuk pengembangan vaksin tetapi juga menunjukkan bahwa penargetan protein ini dapat mengganggu proses penting yang diperlukan untuk kelangsungan hidup dan replikasi bakteri dalam inang (Marie-Ange, Renelle, and Nadia 2018). Kemiripan struktural antara protein PE/PPE pada berbagai spesies mikobakteri menunjukkan potensi reaktivitas silang, yang dapat meningkatkan efektivitas vaksin terhadap berbagai infeksi mikobakteri di luar TB. Karakteristik ini dapat memungkinkan perlindungan yang lebih luas, terutama di wilayah dengan keberadaan berbagai spesies mikobakteri (García-Bengoia et al. 2023; Hebert et al. 2007).

Variabilitas genom dari keluarga gen PPE telah didokumentasikan dengan baik, seperti halnya kemungkinan perannya sebagai sumber utama variasi antigenik (Fleischmann et al. 2002), namun hanya sedikit informasi mengenai kemungkinan



yang telah didokumentasikan untuk gen pepA dan PPE18 kedua gen ini sangat bervariasi, efektivitas vaksin subunit mengganggu (Hebert et al. 2007). Saat ini masih belum banyak mengenai polimorfisme gen-gen tersebut pada isolat *rculosis* di Indonesia, padahal informasi tentang polimorfisme tahu sebagai landasan pertimbangan dalam desain vaksin TB

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, maka rumusan masalah dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Apakah terdapat polimorfisme gen Rv1196 dan Rv0125 pada isolat *M. tuberculosis* tersimpan di Laboratorium RS Pendidikan Universitas Hasanuddin?
2. Apakah terdapat pengaruh polimorfisme gen Rv1196 dan Rv0125 pada isolat *M. tuberculosis* tersimpan di Laboratorium RS Pendidikan Universitas Hasanuddin pada urutan asam amino?
3. Apakah polimorfisme pada gen Rv1196 dan Rv0125 pada isolat *M. tuberculosis* tersimpan di Laboratorium RS Pendidikan Universitas Hasanuddin mempengaruhi hubungan dengan strain lain secara filogenetik?

1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui polimorfisme gen Rv1196 dan Rv0125 *Mycobacterium tuberculosis* sebagai antigen pengkode kandidat vaksin dari isolat tersimpan di Laboratorium Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin Makassar.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengidentifikasi polimorfisme gen Rv1196 dan Rv0125 pada isolat *Mycobacterium tuberculosis* sebagai antigen pengkode kandidat vaksin di Laboratorium Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin Makassar.
2. Untuk mengidentifikasi pengaruh polimorfisme gen RV1196 dan Rv0125 terhadap urutan asam amino.
3. Untuk mengidentifikasi pengaruh polimorfisme gen RV1196 dan Rv0125 terhadap hubungan kekerabatan dengan strain lain secara filogenetik.

1.3.3 Manfaat Penelitian

1. Manfaat Akademik

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan acuan untuk penelitian selanjutnya dan memberikan data polimorfisme atau variasi genetik gen-gen at vaksin pada isolat *M. tuberculosis* di Makassar.



stansi Kesehatan

harapkan dapat memberikan informasi polimorfisme gen *M. donesia* sebagai landasan pertimbangan dalam desain vaksin

neliti

Penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan dalam bidang analisis bioinformatika dan pengalaman meneliti dan menulis bagi peneliti.



Optimized using
trial version
www.balesio.com

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada isolat *Mycobacterium tuberculosis* tersimpan di Laboratorium Mikrobiologi Klinik Rumah Sakit Pendidikan Pendidikan Universitas Hasanuddin, Makassar. Penelitian ini dilakukan selama bulan Januari–September 2024.

2.2 Bahan dan Alat

2.2.1 Alat-alat Penelitian

1. Biosafety cabinet
2. Mesin PCR
3. Freezer -20 o C, -80o C
4. Micropipet 10 µL, 200 µL, dan 1000 µL
5. Labcoat
6. Vortex mixer
7. Microcentrifuge high speed
8. Microcentrifuge low speed, spindown
9. Set elektroforesis: mesin elektroforesis, Cetakan gel yang digunakan untuk membuat gel agarose.
10. Mesin Gel Doc Xr

2.2.2 Bahan-bahan Penelitian

1. Primer Rv1196:
Primer **Rv1196FPref**: CCCGCTGCCGATGAGGTGT
Primer **Rv1196Rpref**: GAGACCGCCGATCACTGGT
Primer Rv0125:
Primer **pepA-F**: CCCGCTGCCGATGAGGTGT
Primer **pepA-R**: GAGACCGCCGATCACTGGT

2. Loading Dye



Red Mix Biolone
p dan 1 kb DNA Ladder

as
action kit

9. Agarose powder
10. Gel red nucleic acid stain (Biotium)
11. TBE (Merck)

2.3 Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan pendekatan *cross sectional study*. Penelitian dilakukan setelah mendapatkan rekomendasi etik.

2.3.1 Populasi Penelitian

Sampel isolat *Mycobacterium tuberculosis* tersimpan di Laboratorium Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin dalam kurun tahun 2018.

2.3.2 Subyek Penelitian

Sampel yang akan diteliti adalah isolat *Mycobacterium tuberculosis* tersimpan yang diperoleh selama periode tahun 2018 di Laboratorium Mikrobiologi Klinik Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin Makassar yang memenuhi kriteria subjek penelitian.

2.3.3 Kriteria Subjek Penelitian

1. Kriteria Inklusi Penelitian
Kriteria inklusi dalam penelitian ini yaitu sampel isolat *Mycobacterium tuberculosis* tersimpan, yang diperoleh tahun 2018 di Laboratorium Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin Makassar.
2. Kriteria Ekskusi Penelitian
Kriteria ekskusi penelitian mencakup sampel isolat M. tuberculosis tersimpan yang tidak terdeteksi gen Rv1196 dan Rv0125.

2.3.4 Jumlah Subjek Penelitian

Besar subjek penelitian ditentukan dengan menggunakan rumus besar subjek untuk penelitian dengan rumus *Slovin*:



$$n = \frac{N}{1 + Ne^2}$$

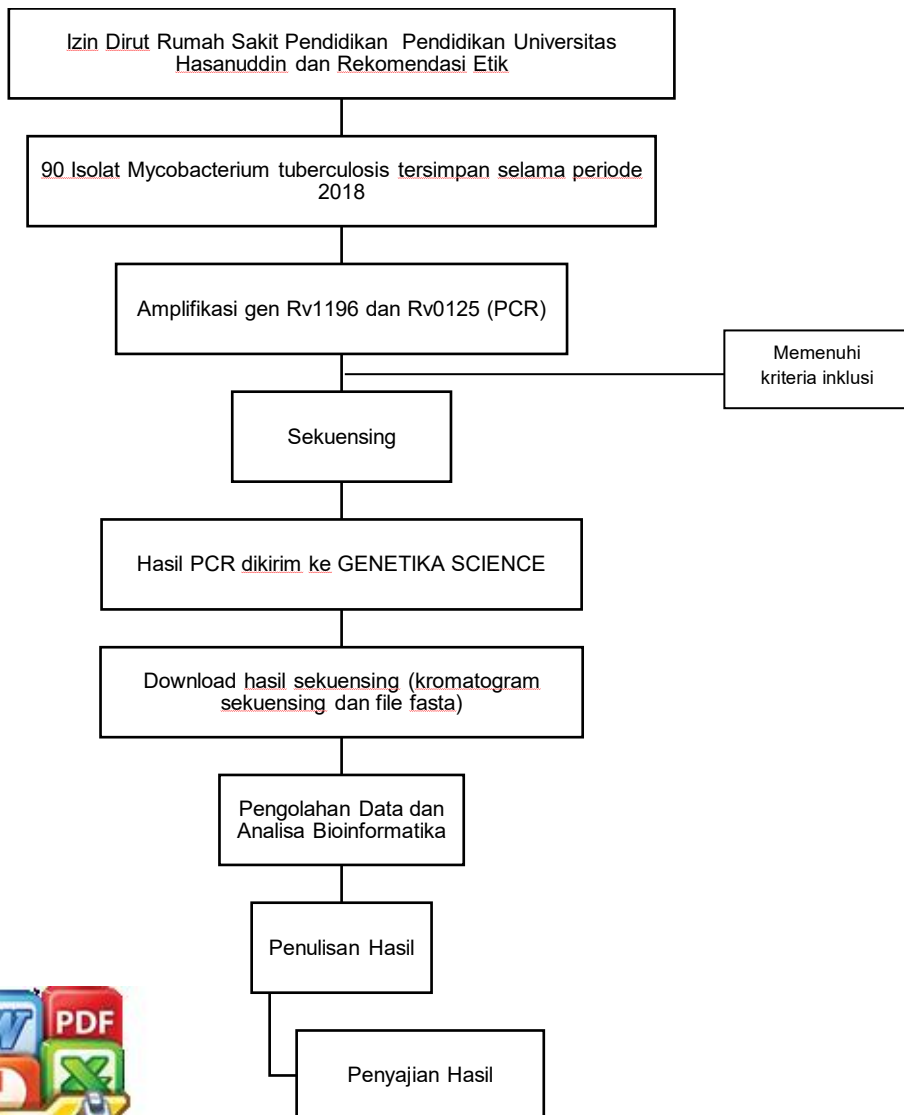
$$n = \frac{931}{1 + 931 \times 10\%^2} = \frac{931}{10.31} = 90.3$$

mlah sampel yang dibutuhkan adalah **90 sampel**

n adalah jumlah subjek yang dicari.
N adalah jumlah populasi.
e adalah margin eror yang ditoleransi.

2.4 Pelaksanaan Penelitian

2.4.1 Alur Penelitian



Gambar 2. 1 Alur Penelitian

2.4.2 Prosedur Penelitian

Ekstraksi DNA

Kultivasi *Mycobacterium tuberculosis* dilakukan menggunakan Löwenstein/ Jensen media. Kultur Mtb kemudian digunakan untuk isolasi genom menggunakan gSYNC DNA extraction kit.

1. Preparasi Sampel. Buat suspensi bakteri sebanyak 0,5–1 Mc Farland dalam tabung eppendorf, sentrifuge selama 5 menit dengan kecepatan 300x G, buang supernatan dan tambahkan 200 µl PBS, tambahkan 20 µl Proteinase K mix.
2. Melisiskan sel (*Cell Lysis*). Tambahkan 200 µl GSB Buffer kemudian vortex dan inkubasi pada suhu 60°C selama 20 menit dan tiap 5 menit divortex.
3. Penempelan DNA (*DNA Binding*). Tambahkan 200 µl ethanol dan vortex selama 10 detik, kemudian masukkan kedalam GS column dalam 2 ml collection tube. Sentrifuge dengan kecepatan 14.000 - 16.000 rpm selama 1 menit, kemudian buang cairan pada collection tube.
4. Pencucian (*Wash*). Tambahkan 400 µl buffer W1, sentrifuge dengan kecepatan 14.000 – 16.000 rpm selama 30 detik, kemudian buang cairan pada collection tube. Tambahkan 600 µl Wash Buffer dan sentrifuge dengan kecepatan 14.000 – 16.000 rpm selama 30 detik. Ganti collection tube dengan yang baru, sentrifuge dengan kecepatan 14.000 – 16.000 rpm selama 3 menit. Pindahkan GS column ke tabung eppendorf steril dan tambahkan 100 µl
5. Elution Buffer yang sebelumnya telah dipanaskan, kemudian sentrifuge dengan kecepatan 14.000 – 16.000 rpm selama 30 detik.
6. Buang GS column. Cairan yang terdapat pada tabung eppendorf merupakan produk DNA yang siap untuk di PCR.

Mix PCR

1. Dibuat set 1 Mix PCR yang berisi primer untuk Gen Rv1196

Go Taq Master Mix	: 12.5 ul
Primer forward Rv1196FPref	: 0.5 ul
Primer reverserd Rv1196RPref	: 0.5 ul
Nuclease free water	: 6.5 ul
DNA sampel	: 5 ul
Total	: 25 ul



PCR yang berisi primer untuk Gen Rv0125

lix	: 12.5 ul
apA-F	: 0.5 ul
pepA-R	: 0.5 ul
ter	: 6.5 ul
	: 5 ul
	: 25 ul

Running PCR

Amplifikasi gen dengan enzim PCR *High Fidelity* dilakukan dengan menggunakan 2 primer *oligosynthesis forward dan reverse* untuk masing-masing antigen, dengan template genom hasil isolasi.

Protokol PCR Gene Rv1196

- Panjang target PCR: 1146 bp
- Primer **Rv1196FPref**
Sekuens primer *forward*: CCCGCTGCCGATGAGGTGT
- Primer **Rv1196RPref**
Sekuens primer *reversed*: GAGACCGCCGATCACTGGT
- Cycle 1 sebanyak 1x Suhu 98 °C selama 30 detik (pre-denaturasi)
- Cycle 2 sebanyak 1x 25 Siklus
 - Step 1 Suhu 98 °C selama 10 detik (proses denaturasi)
 - Step 2 Suhu X °C selama 10 detik (proses *annealing*)
 - Step 3 Suhu 72 °C selama 30 detik (proses *extension*)
- Cycle 3 sebanyak 1x suhu 72 °C selama 5 menit (*final extension*)

Protokol PCR Gene Rv0125

- Panjang target PCR: 1265 bp
- Primer **pepA-F**
Sekuens primer *forward*: CCCGCTGCCGATGAGGTGT
- Primer **pepA-R**
Sekuens primer *reversed*: GAGACCGCCGATCACTGGT
- Cycle 1 sebanyak 1x Suhu 98 °C selama 30 detik (pre-denaturasi)
- Cycle 2 sebanyak 1x 25 Siklus
 - Step 1 Suhu 98 °C selama 10 detik (proses denaturasi)
 - Step 2 Suhu X °C selama 10 detik (proses *annealing*)
 - Step 3 Suhu 72 °C selama 30 detik (proses *extension*)
- Cycle 3 sebanyak 1x suhu 72 °C selama 5 menit (*final extension*)

Gel Elektroforesis

Dilakukan elektroforesis menggunakan gel agarose, dengan pembacaan hasil menggunakan gene ruler 1 kb. Loading dye digunakan untuk mewarnai untai nukleotida.



2 gr agarose dan melarutkan dalam 100 ml TBE Buffer 0,5x
patkan larutan agarose 2%

1 campuran agarose dan TBE Buffer 0,5x hingga larut
ungggu hingga agak dingin kemudian ditambah 10ul Ethidium

- Larutan agarose dituang ke dalam cetakan dan ditunggu hingga beku.
- 2. Pembuatan DNA Marker
 - Memasukan 25 ul DNA 1kb ladder kedalam tube berisi 1 ml Blue Juicer Dye, dan dicampur untuk marker
 - Laber tube dilepas dan diganti menjadi marker
- 3. Persiapan Running Elektroforesis
 - Gel yang telah beku dimasukkan kedalam alat elektroforesis dan direndam dalam larutan TBE 0,5x
 - Sebanyak 20 µl amplikon hasil PCR (kontrol positif, kontrol negatif, sampel) ditambah dengan 2 µl *Blue Juice Loading Dye* (tanpa marker), dicampur dan dimasukkan kedalam lubang-lubang gel.
 - Pada lubang pertama tambahkan 6 ul DNA leader 1 kb di dekat kontrol positif.
- 4. Running Elektroforesis
 - Elektroforesis dihidupkan dan dijalankan dari muatan negatif (katode) kemudian positif (anode) pada 100 A dan 120 menit.
 - Setelah elektroforesis selesai, lalu dilihat pita yang terbentuk. Apabila pita sejajar dengan kontrol positif berarti hasil positif.
- 5. GelDoc

2.4.3 Sekuensing dan Analisa Bioinformatika

Sampel DNA hasil PCR dikirim dan dikerjakan di GENETIKA SCIENCE, First Base Malaysia untuk proses sekuensing DNA dengan metode Sanger. Analisa bioinformatika akan dilakukan *alignment* hasil sekuens sampel yang dikirim dengan *reference sequence* H37Rv dengan menggunakan program UGENE dan BioEdit untuk mengidentifikasi polimorfisme, yang akan ditranslasi ke sekuens asam amino untuk perubahan asam amino. Kemudian dilakukan BLAST pada NCBI <http://blastn.ncbi.nlm.nih.gov> untuk melihat homologi gen tersebut dengan data GenBank. Analisa filogenetik dilakukan dengan menggunakan Mega 11 untuk melihat hubungan kekerabatan sampel yang dianalisa dengan *reference* sekuens dan strain-strain *M. tuberculosis* lain.

2.5 Parameter Pengamatan

2.5.1 Definisi Operasional



erium tuberculosis

erium tuberculosis pada penelitian ini adalah isolat bakteri yang laboratorium Mikrobiologi Klinik Rumah Sakit Pendidikan di selama periode 2018.

at *Mycobacterium tuberculosis*: Dinyatakan positif jika hasil Bactec MGIT 960 (BD) positif.

2. Gen Rv1196

Gen Rv1196 pada penelitian ini ada adalah target gen yang diidentifikasi dari isolat *Mycobacterium tuberculosis* tersimpan yang dapat dideteksi secara molecular dengan menggunakan teknik PCR menggunakan primer *forward* **Rv1196FPref** (CCCGCTGCCGATG)AGGTGT) dan primer *reversed* **Rv1196RPref** (GAGACCGCCGATCACTGGT).

Kriteria objektif : Dinyatakan positif jika pita DNA hasil amplifikasi PCR ditemukan gen Rv1196 pada elektroforesis dengan panjang target PCR diperkirakan sekitar 1446 bp.

3. Gen Rv0125

Gen Rv0125 pada penelitian ini ada adalah target gen yang diidentifikasi dari isolat *Mycobacterium tuberculosis* tersimpan yang dapat dideteksi secara molecular dengan menggunakan teknik PCR menggunakan primer *forward* **pepA-F** (TGAGCTGGCGATCTGGACTACG) dan primer *reversed* **pepA-R** (CACGCGCACGGGAGACGGAAGT).

Kriteria Objektif : Dinyatakan positif jika pita DNA hasil amplifikasi PCR ditemukan gen Rv0125 pada elektroforesis dengan panjang target PCR diperkirakan sekitar 1265 bp.

4. Polimorfisme

Polimorfisme pada penelitian ini adalah perubahan urutan nukleotida (insersi atau delesi) atau *single nucleotide polymorphisms* (SNP) pada gen Rv0125 dan Rv1196 dari isolat *Mycobacterium tuberculosis*.

Kriteria Objektif : Dinyatakan positif jika ditemukan perubahan urutan nukleotida pada *alignment* hasil sekuensing DNA sampel dengan referens sekuens H37Rv.

