

Uji Kepekaan *Mycobacterium sp.* terhadap Isoniazid (INH) Menggunakan Metode Rasio Resistensi secara *In Vitro*

Sensitivity test of Mycobacterium sp. against Isoniazid (INH) Using In Vitro Resistance Ratio Method

Dwi Yuni Nur Hidayati¹, Roekistiningsih¹, Rizna Nugrahani^{2*}

¹Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya

²Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya

*Email:

Abstrak

Infeksi mikobakteria termasuk diantara infeksi yang paling sulit disembuhkan dari semua jenis infeksi bakteri. Mikobakteria yang patogen utamanya adalah *Mycobacterium tuberculosis* sebagai penyebab tuberkulosis (TB), yang mengakibatkan lebih banyak kematian daripada agen mikroba tunggal lainnya di seluruh dunia. Penelitian ini menggunakan *Mycobacterium sp.* yang bermanifestasi klinis tuberkulosis atau mirip tuberkulosis. Salah satu usaha untuk mengobati penyakit infeksi akibat *Mycobacterium sp.* yang bermanifestasi klinis penyakit tuberkulosis atau mirip tuberkulosis adalah dengan menggunakan isoniazid. Terapi tunggal dengan isoniazid dan kegagalan penggunaan isoniazid ditambah obat lain yang sesuai telah mengakibatkan prevalensi resistensi isoniazid sebesar 10-20% dalam uji klinis di Karibia dan Asia Tenggara. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri *Mycobacterium sp.* yang berasal dari pasien RSSA Malang sudah resisten terhadap isoniazid. Penelitian bersifat semi kuantitatif untuk mengetahui resistensi *Mycobacterium sp.* terhadap isoniazid dengan menggunakan metode rasio resistensi. Dasar dari metode ini adalah membandingkan *minimal inhibitory concentration* (MIC) dari strain *Mycobacterium sp.* dengan MIC dari isoniazid untuk *M. tuberculosis* strain H37RV. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 40% dari total isolat adalah resisten, 20% adalah *intermediate resistant* dan 40% adalah sensitif. Disimpulkan bahwa telah terjadi resistensi *Mycobacterium sp.* terhadap isoniazid.

Kata kunci: *Mycobacterium sp.*, resisten Isoniazid, rasio resistensi

Abstract

Mycobacteria's infection is one of the most difficult cured infection from all over kind of bacteria's infection. The major pathogen mycobacteria is Mycobacterium tuberculosis, agent of tuberculosis (TB) that causes more deaths than other single microbes in the world. This research uses Mycobacterium sp. which clinically manifest as tuberculosis or tuberculosis-like disease. One of efforts to cure this infection is by using isoniazid. Single dose of isoniazid and failed use of isoniazid plus other suitable drug have resulted prevalence of isoniazid-resistant about 10-20% in clinical test in Caribbean and South East Asia. This research is aimed to know whether Mycobacterium sp. from RSSA Malang patients has been resistant toward isoniazid. This research uses a semi quasi experimental research to know the resistance of Mycobacterium sp. toward isoniazid by using resistance ratio method. This method compares minimal inhibitory concentration (MIC) of Mycobacterium sp. strain with MIC from isoniazid to M. tuberculosis strain H37RV. Result of this research indicates that 40% from total isolates are resistant, 20% are intermediate resistant, and 40% are sensitive. The conclusion is Mycobacterium sp. has been resistant toward isoniazid.

Key words: *Mycobacterium sp.*, Isoniazid-resistant, resistance ratio

PENDAHULUAN

Mikobakteria adalah bakteri aerob, berbentuk batang, yang tidak membentuk spora.¹ Ciri khas genus *Mycobacterium* ialah sukar diwarnai; tetapi bila bahan warna sudah menyerap, bahan warna tersebut tetap dipertahankan dan sukar dilunturkan walaupun dengan alkohol asam. Oleh karena itu, bakteri ini disebut bakteri tahan asam atau *acid fast bacilli*.²

Infeksi yang disebabkan oleh mikobakteria termasuk diantara infeksi yang paling sulit disembuhkan dari semua jenis infeksi bakteri.³ Terdapat lebih dari 50 spesies *Mycobacterium*, baik yang patogen maupun saprofit.⁴ Mikobakteria yang patogen utamanya adalah *Mycobacterium tuberculosis*, penyebab tuberkulosis, dan *Mycobacterium leprae*, penyebab lepra. Mikobakteria atipik seperti *M. avium-intracellulare complex* dan *M. kansasii*, bisa menyebabkan penyakit mirip tuberkulosis tetapi mikobakteria patogen ini jarang terjadi pada manusia. Mikobakteria yang pertumbuhannya cepat seperti *M. chelonae* adalah mikobakteria saprofit yang kadang-kadang menyebabkan penyakit, pada orang dengan penurunan fungsi imun.¹

Mycobacterium tuberculosis adalah penyebab tuberkulosis (TB) yang mengakibatkan lebih banyak kematian pada manusia daripada agen mikroba tunggal lainnya di seluruh dunia. Sekitar sepertiga populasi dunia terinfeksi oleh bakteri ini. Setiap tahun, diperkirakan 3 juta orang meninggal akibat TB dan muncul 8 juta kasus baru.¹

Laporan TB dunia oleh WHO yang terbaru (tahun 2006), masih menempatkan Indonesia sebagai penyumbang TB terbesar nomor 3 di dunia setelah India dan Cina dengan jumlah kasus baru sekitar 539.000 dan jumlah kematian sekitar

101.000 pertahun. Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 1995, menempatkan TB sebagai penyebab kematian ketiga terbesar setelah penyakit kardiovaskuler dan penyakit saluran pernafasan dan merupakan nomor satu terbesar dalam kelompok penyakit infeksi.⁵

Salah satu usaha untuk mengobati penyakit infeksi akibat *Mycobacterium sp.* yang bermanifestasi klinis tuberkulosis atau mirip tuberkulosis ini adalah dengan menggunakan obat seperti isoniazid (INH). Terapi obat tunggal dengan isoniazid dan kegagalan penggunaan isoniazid ditambah dengan satu atau dua obat lain yang sesuai telah mengakibatkan prevalensi resistensi isoniazid sebesar 10-20% dalam uji klinis di Karibia dan Asia Tenggara.³ Resistensi primer terhadap INH di negara sedang berkembang termasuk Indonesia mempunyai prosentase tertinggi diantara tuberkulostatika lainnya. Hal ini dapat dikarenakan oleh luasnya pemakaian INH sebagai obat yang murah harganya.⁶

Pola resistensi bakteri terhadap obat sangatlah menentukan keberhasilan dalam usaha menyembuhkan penderita dan memberantas penyakit yang disebabkan oleh bakteri itu. Untuk mengetahui seberapa besar resistensi bakteri yang timbul baik pada penderita maupun di masyarakat serta untuk membantu para klinisi dan ahli epidemiologi dalam mengatasi masalah resistensi, perlu dilakukan suatu usaha antara lain uji kepekaan bakteri.⁶

Sampai saat ini dikenal beberapa metode uji kepekaan mikrobakteri, beberapa diantaranya adalah metode konsentrasi absolut, metode rasio resistensi dan metode proporsional.⁷ Di Indonesia sendiri belum ada kesepakatan tentang metode mana yang lebih sesuai untuk digunakan. Pada penelitian ini metode yang akan digunakan adalah rasio resis-

tensi. Metode rasio resistensi dan konsentrasi absolut mudah dilaksanakan, akan tetapi untuk pembacaan dan interpretasi hasil uji relatif lebih praktis menggunakan metode rasio resistensi, sedangkan untuk metode proporsional, pelaksanaannya cukup rumit sehingga tidak dikerjakan dalam pemeriksaan rutin setiap hari dan umumnya penggunaan metode ini terbatas dalam penelitian saja. Dasar dari metode rasio resistensi adalah membandingkan *minimal inhibitory concentration* (MIC) dari strain *Mycobacterium sp.* dengan MIC dari isoniazid untuk *M. tuberculosis* strain H37RV. Metode ini pertama kali dipakai di Inggris khususnya untuk mengetahui resistensi *M. tuberculosis* terhadap streptomisin.⁶ Jika rasio resistensinya sama dengan 2, maka strain tersebut sensitif; rasio resistensi 4 berarti strain tersebut *intermediate resistant*; rasio resistensi 8 strain tersebut resisten.⁸

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui resistensi *Mycobacterium sp.* terhadap isoniazid dengan menggunakan metode rasio resistensi

BAHAN DAN CARA

Penelitian ini adalah penelitian laboratoris untuk mengetahui resistensi *Mycobacterium sp.* terhadap isoniazid dengan menggunakan metode rasio resistensi. Jenis penelitian ini adalah semi kuasi eksperimental. Sampel penelitian ini adalah *Mycobacterium sp.* yang diisolasi dari sputum pasien dengan BTA positif dari Rumah Sakit Dr Saiful Anwar Malang. *Mycobacterium sp.* yang dipakai dalam penelitian ini sebanyak 5 isolat.

Menyiapkan Larutan Obat. Larutan obat dibuat dengan membuat 10 ml larutan INH dengan konsentrasi 10.000 µg/ml dengan menggunakan rumus:

Jumlah INH yang diperlukan

$$= \frac{10.000}{\text{potensi}} \text{ 10 mg}$$

Potensi obat adalah berat zat aktif (dalam mikrogram) yang dikandung per miligram obat jadi tersebut. Potensi INH adalah 1.000 µg/mg karena berdasarkan pabrik pemroduksinya INH yang dipakai adalah INH murni. Jadi jumlah INH yang diperlukan adalah:

$$\left(\frac{10.000 \text{ µg/ml}}{1.000 \text{ µg/mg}} \text{ 10 ml} \right) = 100 \text{ mg}$$

kemudian 100 mg dilarutkan ke dalam 10 ml air suling steril, setelah itu ditambahkan air suling sebanyak 9 ml pada 1 ml larutan tersebut, kemudian disaring dengan filter membran dan disimpan pada suhu -70°C.

Menyiapkan Media Lowenstein-Jensen (LJ) pada Tabung. Media yang digunakan untuk melakukan uji resistensi ini adalah Lowenstein-Jensen (LJ) yang telah ditambah dengan OADC *enrichment* dengan perbandingan 9:1. Tabung yang diperlukan sebanyak 35 tabung terdiri dari 5 tabung LJ tanpa INH sebagai kontrol dan 30 tabung LJ dengan INH berbagai konsentrasi. Setiap tabung berisi 10 ml larutan. Konsentrasi INH dalam media adalah 0,06 µg/ml; 0,12 µg/ml; 0,25 µg/ml; 0,50 µg/ml; 1,00 µg/ml dan 2,00 µg/ml. Untuk dapat membuat media yang mengandung INH dengan berbagai konsentrasi dilakukan pengenceran, dimulai dari konsentrasi tertinggi yaitu dengan rumus $M1 \times V1 = M2 \times V2$

M1: konsentrasi larutan INH

V1: volume larutan INH

M2: konsentrasi INH dalam media LJ

V2: V1+volume media LJ

Konsentrasi 2,00 µg/ml:

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$1000 \times V1 = 2,00 \times 100$$

$$V1 = 0,2 \text{ ml}$$

untuk membuat konsentrasi INH 2,00 µg/ml dengan cara menuang larutan INH konsentrasi 1.000 µg/ml sebanyak 0,2 ml dan LJ sebanyak 99,8 ml ke dalam tabung dan dihomogenkan dengan vortex. Untuk membuat konsentrasi INH 1,00 yaitu dengan mengambil larutan INH konsentrasi 2,00 µg/ml sebanyak 50 ml dan dituangkan ke dalam tabung yang telah berisi 50 ml LJ, kemudian dihomogenkan dan seterusnya sampai konsentrasi INH 0,06 µg/ml. Setelah itu media dituangkan masing-masing 10 ml pada 5 tabung (yang akan diinokulasikan strain bakteri ke dalamnya pada setiap konsentrasi) dan dituangkan juga masing-masing 10 ml pada tabung LJ tanpa INH sebanyak 5 tabung kemudian dikukus selama ±30 menit/sampai matang, setelah itu disimpan pada suhu kamar sampai dingin setelah itu disimpan di lemari pendingin sampai akan digunakan.

Inokulasi Bakteri pada Media. Inokulasi bakteri dilakukan di dalam *laminary cabinet* dengan cara mengambil satu sengkeliit penuh bakteri dari kultur yang akan diperiksa dengan menggunakan sengkeliit berdiameter 3 mm dan disuspensikan dalam air suling steril dan dihomogenkan dengan vortex. Untuk membuat suspensi bakteri yang lebih

homogen ditambahkan beberapa tetes *Tween* 80 10% pada suspensi bakteri kemudian mengambil satu sengkeliit penuh suspensi bakteri tersebut dan dikultur merata pada setiap media LJ+INH berbagai konsentrasi dan media LJ tanpa INH sebagai kontrol setelah itu diinkubasi pada 37°C selama 2 minggu sampai maksimal 8 minggu.

Pembacaan dan Interpretasi Hasil Uji. Pembacaan hasil uji dilakukan dengan cara mengamati pertumbuhan pada masing-masing tabung dan menghitung koloni yang terbentuk setelah itu menentukan MIC setiap strain isolat yaitu konsentrasi terendah yang ditumbuhi kurang dari 20 koloni (untuk MIC dari INH untuk *M. tuberculosis* strain H37RV adalah 0,06 µg/ml), setelah itu membandingkan antara MIC strain isolat dengan MIC dari INH untuk *M. tuberculosis* strain H37RV. Bila rasio resistensinya 2, maka strain tersebut sensitif; rasio resistensinya 4 berarti bakteri tadi *intermediate resistant*; rasio resistensinya 8 strain tersebut resisten.

HASIL

Kultur *Mycobacterium* sp. + Isoniazid. Kultur *Mycobacterium* sp. + isoniazid yang telah diinkubasikan pada suhu 37°C kemudian diamati jumlah koloninya. Pembacaan koloni yang terbentuk bisa dilakukan setelah 2 minggu dari awal inkubasi. Diambil waktu 2 minggu karena umumnya koloni baru

Tabel 1. Jumlah Koloni pada Masing-Masing Isolat dalam Berbagai Konsentrasi

	Konsentrasi (µg/ml)						
	0	0,06	0,125	0,25	0,50	1,0	2,0
Isolat 1	diffuse	diffuse	diffuse	diffuse	-	-	-
Isolat 2	diffuse	diffuse	-	-	-	-	-
Isolat 3	diffuse	diffuse	diffuse	-	-	-	-
Isolat 4	diffuse	diffuse	diffuse	diffuse	diffuse	-	-
Isolat 5	25	29	6	2	-	-	-

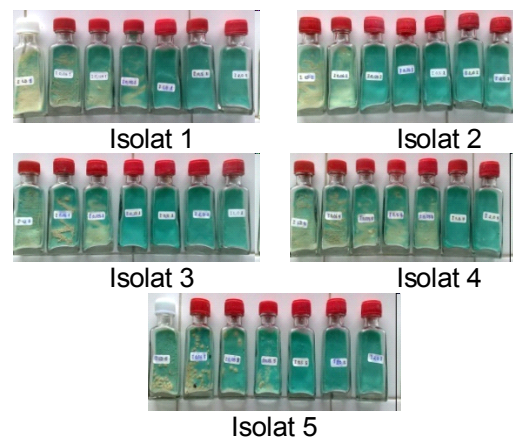
nampak setelah kultur berumur 14 hari. Pada penelitian ini pembacaan koloni dilakukan setelah 3 minggu. Koloni yang terbentuk bisa berupa *diffuse* atau tampak jelas bentukan koloninya. Untuk koloni yang *diffuse* menandakan bahwa koloni yang terbentuk adalah >20 koloni dan koloni tampak menyatu dengan media. Dari pembacaan koloni tersebut didapatkan hasil untuk masing-masing isolat yang disajikan dalam Gambar 1.

Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Isolat. Metode rasio resistensi berdasarkan pada penentuan *minimal inhibitory concentration* (MIC), maka pembacaan hasil uji juga berdasarkan MIC. Penentuan suatu isolat resisten atau sensitif terhadap INH dilakukan dengan membandingkan MIC dari strain isolat dengan MIC dari INH untuk *M. tuberculosis* strain H37RV. Dalam menentukan MIC strain isolat harus diperhatikan media dengan konsentrasi obat terendah yang ditumbuhi kurang dari 20 koloni. Untuk MIC dari INH untuk *M. tuberculosis* strain H37RV adalah 0,06 mg/ml.⁶ Berdasarkan Tabel 1. maka dapat diketahui MIC masing-masing isolat yaitu:

Rasio Resistensi. Rasio resistensi ditentukan dengan cara membagi MIC untuk strain *Mycobacterium sp* dengan MIC dari INH untuk *M. tuberculosis* strain H37RV.⁶

Tabel 3. Rasio Resistensi Masing-masing Isolat

Isolat	1	2	3	4	5
Rasio Resistensi	8	2	4	16	2
Interpretasi	Resisten	Sensitif	<i>Intermediate resistant</i>	Resisten	Sensitif



Gambar 1. Jumlah Koloni pada Masing-masing Isolat Berturut-turut (Kiri ke Kanan) dari Konsentrasi 0 g/ml; 0,06 g/ml; 0,125 g/ml; 0,25 g/ml; 0,50 g/ml; 1,0 g/ml; 2,0 g/ml

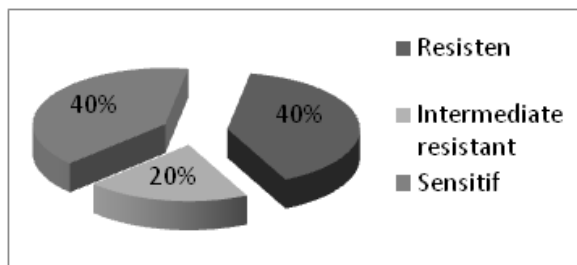
Jika rasio resistensinya sama dengan 2, maka strain tersebut sensitif; rasio resistensinya 4 berarti strain tersebut *intermediate resistant*; rasio resistensinya 8 strain tersebut resisten,⁸ sehingga untuk masing-masing isolat didapatkan rasio resistensi seperti pada Tabel 3.

Dapat disimpulkan bahwa dari 5 isolat *Mycobacterium sp.* didapatkan 2 isolat yang resisten terhadap INH yaitu isolat 1 dan 4; 1 isolat yang

Tabel 2. Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Masing-masing Isolat

Isolat	1	2	3	4	5
MIC (µg/ml)	0,50	0,125	0,25	1,00	0,125

intermediate resistant yaitu isolat 3; dan 2 isolat yang sensitif yaitu isolat 2 dan 5. Dengan demikian jika dihitung secara persentase maka 40% dari total isolat adalah resisten, 20% adalah *intermediate resistant* dan 40% adalah sensitif dan dapat dibuat diagram seperti pada Gambar 2.



Gambar 2. Persentase Hasil Rasio Resistensi pada Isolat

DISKUSI

Infeksi yang disebabkan oleh mikobakteria termasuk diantara infeksi yang paling sulit disembuhkan dari semua jenis infeksi bakteri. Mikobakteria merupakan organisme-organisme yang lambat berkembangnya, maka mereka relatif resisten (aktivitas yang cenderung tergantung pada seberapa cepat sel-selnya membelah) terhadap antibiotik.³ Terdapat lebih dari 50 spesies *Mycobacterium*, baik yang patogen maupun saprofit.⁴

Mikobakteria yang patogen utamanya adalah *M. tuberculosis*, penyebab tuberkulosis, dan *M. leprae*, penyebab lepra. Mikobakteria atipik seperti *M. avium-intracellulare complex* dan *M. kansasii*, bisa menyebabkan penyakit mirip tuberkulosis tetapi mikobakteria patogen ini jarang terjadi pada manusia. Mikobakteria yang pertumbuhannya cepat seperti *M. chelonae* adalah mikobakteria saprofit yang kadang-kadang menyebabkan penyakit, pada orang dengan penurunan fungsi imun. *Mycobac-*

terium tuberculosis adalah penyebab tuberkulosis (TB) yang mengakibatkan lebih banyak kematian daripada agen mikroba tunggal lainnya di seluruh dunia. Sekitar sepertiga populasi dunia terinfeksi oleh bakteri ini. Setiap tahun, diperkirakan 3 juta orang meninggal akibat TB dan muncul 8 juta kasus baru.¹ Hal ini menandakan bahwa infeksi oleh mikobakteria merupakan ancaman serius dalam bidang kesehatan.

Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan uji kepekaan terhadap *Mycobacterium sp.* yang bermanifestasi klinis tuberkulosis atau mirip tuberkulosis. Selain itu pada penelitian ini tidak secara khusus menyatakan spesies *mycobacterium* tertentu karena tidak dilakukan identifikasi untuk membedakan spesiesnya.

Pada penelitian ini digunakan 5 sampel sputum yang diisolasi dari penderita dengan BTA positif (mengandung *Mycobacterium sp.*) dari Rumah Sakit Umum Dr Saiful Anwar Malang. Diambil batasan 5 isolat penderita atas pertimbangan bahwa penelitian ini akan memakan waktu yang lama dikarenakan penelitian ini adalah yang pertama dilakukan di laboratorium Mikrobiologi FKUB sehingga akan menimbulkan beberapa kendala teknis operasional. Harus diakui bahwa tidaklah mudah untuk melakukan penelitian uji kepekaan mikobakteri, karena di Indonesia sendiri belum banyak yang melakukan penelitian serupa, sehingga dalam beberapa hal masih menganut pedoman dari luar negeri yang belum tentu sesuai dengan keadaan di Indonesia. Disini tidak dilakukan pengulangan penelitian berdasarkan pertimbangan serupa. Walaupun begitu sebenarnya telah dilakukan beberapa kali percobaan pendahuluan untuk mengetahui kekurangan-

kekurangan yang timbul selama melaksanakan penelitian ini. Kendala yang timbul selama percobaan pendahuluan kemungkinan disebabkan kesalahan dalam melakukan prosedur penelitian.

Kegiatan menumbuhkan mikobakteria memerlukan waktu yang lama, maka pada pemeriksaan tes resistensi, kepekaan mikobakteria yang akan diperiksa secara relatif dibandingkan dengan resistensi kuman tuberkulosis standar yaitu *M. tuberculosis* strain H37RV.⁹

Dengan adanya situasi tuberkulosis global yang memburuk, uji kepekaan bakteri yang cepat dan dapat dipercaya adalah penting untuk pengelolaan pasien dengan tepat terutama bagi pasien yang resisten banyak obat. Pada dasarnya uji kepekaan seharusnya dilakukan pada setiap pasien baru. Jika resistensi terhadap isoniazid, rifampin atau ethambutol terdeteksi, maka obat anti tuberkulosis lainnya juga harus diuji secepatnya. Selanjutnya dengan timbulnya resistensi harus dilakukan pengawasan dengan melakukan uji kepekaan ulang pada isolat berikutnya dalam tempo 2-3 bulan.¹⁰

Pengelolaan pasien yang terinfeksi oleh tuberkulosis resisten banyak obat, walaupun jumlah mereka sedikit, dapat lebih mahal daripada biaya untuk melakukan uji kepekaan pada isolat awal (pertama kali diambil dari pasien baru) dari semua pasien baru.¹¹ Biaya total untuk menguji isolat awal dari sekitar 20.000 pasien yang baru terdiagnosis di Amerika setiap tahunnya mencapai paling tidak \$1 juta. Ini sebanding dengan biaya pengelolaan kurang dari 10 pasien yang resisten banyak obat.¹²

Pada penelitian ini obat yang akan diuji adalah isoniazid. Terapi obat tunggal dengan isoniazid dan kegagalan penggunaan isoniazid ditambah dengan

satu atau dua obat lain yang sesuai telah mengakibatkan prevalensi resistensi isoniazid sebesar 10-20% dalam uji klinis di Karibia dan Asia Tenggara.³ Resistensi primer terhadap INH di negara sedang berkembang termasuk Indonesia mempunyai prosentase tertinggi diantara tuberkulostatika lainnya. Hal ini dapat dikarenakan oleh luasnya pemakaian INH sebagai obat yang murah harganya.⁶ Sebuah penelitian yang dilakukan di Kanada melaporkan resistensi *M. tuberculosis* terhadap isoniazid sebanyak 36% dari total 245 kultur *M. tuberculosis* pada uji kepekaan menggunakan metode proporsional.¹³

Rancangan penelitian ini adalah semi kuasi eksperimental karena ada perlakuan terhadap sampel, ada kontrol terhadap sampel, dan tidak ada pengulangan penelitian.

Sampai saat ini dikenal beberapa metode uji kepekaan mikobakteria, beberapa diantaranya adalah metode konsentrasi absolut, metode rasio resistensi, dan metode proporsional.⁷ Di Indonesia sendiri belum ada kesepakatan tentang metode mana yang lebih sesuai untuk digunakan. Pada penelitian ini metode yang dipilih adalah metode rasio resistensi. Metode rasio resistensi dan konsentrasi absolut mudah dilaksanakan, akan tetapi untuk pembacaan dan interpretasi hasil uji, metode rasio resistensi relatif lebih praktis. Metode proporsional pelaksanaannya cukup rumit sehingga tidak dikerjakan dalam pemeriksaan rutin setiap hari dan umumnya metode ini dipakai dalam penelitian saja, sedangkan tujuan penelitian ini adalah agar uji kepekaan mikobakteria dapat dipertimbangkan untuk dilakukan secara rutin, tidak hanya berhenti pada tingkat penelitian saja.

Dasar metode rasio resistensi adalah membandingkan *minimal inhibitory concentration* (MIC)

dari strain isolat *M. tuberculosis* dengan *M. tuberculosis* strain H37RV. MIC strain isolat dilihat dari media dengan konsentrasi obat terendah yang ditumbuhi kurang dari 20 koloni, sedangkan MIC dari INH untuk *M. tuberculosis* strain H37RV adalah 0,06 mg/ml, menganut pedoman dari Inggris.⁶ Jika rasio resistensinya sama dengan 2, maka strain tersebut sensitif; rasio resistensinya 4 berarti strain tersebut *intermediate resistant*; rasio resistensinya 8 strain tersebut resisten.⁹

Hasil penelitian ini yaitu dari 5 isolat *Mycobacterium sp.* terdapat 2 isolat resisten terhadap INH yaitu isolat 1 dan 4; 1 isolat *intermediate resistant* yaitu isolat 3; dan 2 isolat sensitif yaitu isolat 2 dan 5. Dengan demikian jika dihitung secara persentase maka 40% dari total isolat adalah resisten, 20% adalah *intermediate resistant* dan 40% adalah sensitif. Hal ini membuktikan bahwa telah terdapat resistensi terhadap INH.

Beberapa faktor dapat menyebabkan terjadinya resistensi *Mycobacterium sp.* terhadap INH ini. Antara lain faktor internal dan eksternal. Faktor internal berasal dari penderita dan mutasi oleh isoniazid itu sendiri. Faktor yang berasal dari penderita dibagi menjadi dua jenis: (1) resistensi primer, timbul pada seseorang yang terinfeksi pertama kali dengan organisme yang resisten, dan (2) resistensi sekunder (resistensi didapat), yang muncul selama pengobatan tuberkulosis akibat tidak adekuatnya regimen atau gagal mengkonsumsi obat yang sesuai.¹⁴ Mekanisme terjadinya resistensi berhubungan dengan kegagalan obat mencapai bakteri atau bakteri tidak menyerap obat.

Resistensi terhadap INH telah diasosiasikan dengan mutasi yang menghasilkan overekspresi

dari *inhA*, yang mengkode suatu pembawa *acyl protein reductase* yang tergantung NADH; mutasi atau delesi dari *katG*; mutasi promotor menghasilkan over-ekspresi dari *ahpC*, sebuah gen virulence dugaan yang terlibat dalam proteksi sel dari stress oksidatif; dan mutasi pada *kasA*.³

Faktor eksternal berasal dari kemampuan/*skill* dari peneliti dan instrumen-instrumen yang digunakan dalam melakukan uji ini. *Skill* dari peneliti yang dimaksud adalah pengalaman dan ketrampilan dalam melakukan penelitian serupa, sedangkan dari instrumen antara lain terbatasnya instrumen yang dimiliki oleh laboratorium maupun kualitas standar dari instrumen itu sendiri. Bisa pula oleh karena bahan pemeriksaan yang dipakai (sputum penderita) yang tidak diambil atau disimpan dengan cara yang benar maupun prosedur yang salah pada saat penelitian.¹² Di samping itu, karena belum banyaknya penelitian uji kepekaan mikobakteri yang dilakukan, maka beberapa laboratorium di Indonesia masih menggunakan konsentrasi obat yang biasa dipakai oleh negara lain seperti Inggris, Jepang dan Amerika, walaupun konsentrasi tersebut belum tentu sesuai dengan keadaan di Indonesia.⁶

Diperlukan uji-uji kepekaan serupa yang mencakup lebih banyak sampel dengan instrumen yang lebih *standardize* dan memadai khususnya di Indonesia agar dapat diketahui dengan pasti epidemiologi terjadinya tuberkulosis resisten obat. Serta sebagai alternatif dari penelitian ini adalah dilakukan uji kepekaan khususnya terhadap *Mycobacterium tuberculosis* sebagai penyebab utama tuberkulosis. Hal ini dianggap penting mengingat tingginya jumlah kasus tuberkulosis di Indonesia dan resiko penularannya yang mudah dari orang ke o-

rang serta untuk menurunkan terjadinya *drug/multi-drug resistance*. Selain itu agar dapat memberikan terapi yang tepat pada penderita infeksi oleh *Mycobacterium sp.*, sehingga tujuan akhirnya adalah menurunnya angka morbiditas dan mortalitas akibat infeksi *Mycobacterium sp.* terutama di Indonesia.

SIMPULAN

Telah terjadi resistensi *Mycobacterium sp.* terhadap isoniazid.

DAFTAR PUSTAKA

1. Levinson W, Jawetz E. *Medical Microbiology and Immunology: Examination and Board Review, Sixth Edition*. USA: Mc Graw-Hill. 2002. hal. 134-139.
2. Dzen MS, Roekistiningsih, Santoso S, Winarsih S. *Bakteriologi Medik*. Malang: Bayumedia Publishing. 2003. hal. 293-312.
3. Katzung, BG. *Farmakologi Dasar dan Klinik, Edisi 8*, Sjabana D, Rahardjo, Sastrowardoyo W, Hamzah, Isbandiati E, Uno I, Purwaningsih S, 2004. Jakarta: Salemba Medika. 2004. hal. 91-96.
4. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology, Twenty Third Edition*. USA: Mc Graw-Hill. 2004. hal. 319-327.
5. Aditama TY, Kamso S, Basri C, Surya A. 2006. Tuberkulosis Secara Global. Dalam: *Pedoman Nasional Penanggulangan Tuberkulosis. Edisi kedua*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 2007.
6. Sandjaja B. *Isolasi dan Identifikasi Mikobakteria*. Jakarta: Widya Medika. 1992. hal. 85-91.
7. Mitchison, DA. Drug Resistance in Tuberculosis. *Eur Respir J*. 2005; 25 (2): 376-9.
8. Balows A, Hausler WJ, Hermann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ. *Manual of Clinical Microbiology, Fifth Edition*. USA: American Society for Microbiology. 1991. hal. 1139.
9. Chatim A, Bela B, Isjah L, Lintong M, Hutabarat T, Warsa UC. *Penuntun Praktikum Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Binarupa Aksara. 1991. hal. 32.
10. Pfyffer GE. Drug-Resistant Tuberculosis: Resistance Mechanisms and Rapid Susceptibility Testing. *Schweiz Med Wochenschr*, 2000; 130 (49): 1909-13.
11. Cole ST, Eisenach KD, McMurray DN, Jacobs WR. *Tuberculosis and The Tubercle Bacilli*. Washington DC: ASM Press. 2005. hal. 115.
12. Heifets LB, Cangelosi GA. Drug Susceptibility Testing of Mycobacterium Tuberculosis: A Neglected Problem at The Turn of The Century. *Int J Tuberc Lung Dis*. 1999; 3 (7): 564-81.
13. Laszlo A, Gill P, Handzel V, Hodgkin MM., Helbecque DM. 1983. Conventional and Radiometric Drug Susceptibility Testing of Mycobacterium tuberculosis Complex. *J Clin Microbiol*. 1983; 18 (6): 1335-1339.
14. Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwal E, Hauser SL, Jameson JL. 2005. *Harrison's Principles of Internal Medicine, 16th Edition*, USA: Mc Graw-Hill. hal. 963.