



HUBUNGAN POLIMORFISME GEN VITAMIN D RECEPTOR (VDR) APAI DENGAN MULTI DRUGS RESISTANT TUBERCULOSIS (MDR TB)

Christine Verawaty Sibuea^{1✉}, Maria Pardosi², Ira Simbolon³, Paulus Adventus Tampubolon⁴

^{1,2,3,4}Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen
christine.sibuea@yahoo.com

Abstrak

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit infeksi menular yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. TB dapat diobati dan pasien akan sembuh setelah diterapi dengan obat anti tuberkulosis (OAT). Resistensi pada dua jenis OAT yang disebut dengan Multi Drug Resistant TB (MDR-TB) akan meningkatkan angka mortalitas dan merupakan masalah kesehatan yang penting. MDR-TB dapat disebabkan karena pengobatan yang tidak adekuat, mutasi dari bakteri tuberkulosis, serta faktor imunitas dan genetik host. Polimorfisme gen dianggap sebagai salah satu penyebab terjadinya MDR-TB. Vitamin D dianggap berperan penting dalam imunitas tubuh dan eliminasi *Mycobacterium tuberculosis*, sehingga polimorfisme gen VDR dianggap mempengaruhi kerentanan menderita MDR-TB. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui polimorfisme gen VDR-ApaI pada MDR-TB di kota Medan. DNA diisolasi dari 32 sampel darah penderita MDR-TB dan 32 sampel darah penderita non MDR-TB. DNA diamplifikasi dengan menggunakan PCR. Amplikon hasil PCR didigesti dengan enzim restriksi ApaI dan divisualisasi dengan elektroforesis gel agarosa. Allel varian TT dan allel heterozigot GT hanya ditemukan pada non MDR-TB. Tidak terdapat hubungan yang signifikan antara polimorfisme gen VDR ApaI dengan MDR-TB.

Kata Kunci: *gen VDR, polimorfisme, MDR tuberkulosis, RFLP, ApaI*

Abstract

*Tuberculosis (TB) is a contagious infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis*. TB can be treated, and patients will recover after being treated with anti-tuberculosis drugs (OAT). Resistance to two types of OAT called Multi Drug Resistant TB (MDR-TB) will increase mortality rates and is an important health problem. MDR-TB can be caused by inadequate treatment, mutations of tuberculosis bacteria, and host immune and genetic factors. Gene polymorphism is considered to be one of the causes of MDR-TB. Vitamin D is considered to play an important role in body immunity and the elimination of *Mycobacterium tuberculosis*, so the VDR gene polymorphism is thought to influence susceptibility to suffering from MDR-TB. This study aims to determine the polymorphism of the VDR-ApaI gene in MDR-TB in the city of Medan. DNA was isolated from 32 blood samples of MDR-TB sufferers and 32 blood samples of non-MDR-TB sufferers. DNA is amplified using PCR. The PCR amplicons were digested with the ApaI restriction enzyme and visualized by agarose gel electrophoresis. The TT variant allele and the heterozygous GT allele are only found in non-MDR-TB. There is no significant relationship between the VDR ApaI gene polymorphism and MDR-TB.*

Keywords: *VDR gene, polymorphism, MDR tuberculosis, RFLP, ApaI*

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) merupakan *communicable disease* (CD) yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Tuberkulosis dapat menular dari individu ke individu lain melalui percikan bakteri yang terhirup melalui batuk, ataupun bersin (Medapati dkk., 2017: 1).

TB dinyatakan sebagai *global health emergency* oleh WHO. Secara global sekitar 10 juta orang terkena TB pada tahun 2019 dan Indonesia merupakan negara dengan kasus TB terbanyak ke-2 di seluruh dunia. Jumlah kasus tuberkulosis meningkat 69% di Indonesia pada tahun 2020 (Global tuberculosis report, 2020).

Menurut data WHO, 85% TB dapat diobati dengan rejimen obat 6 bulan (Global tuberculosis report, 2020). Resistensi terhadap rejimen obat anti tuberkulosis (OAT) mengakibatkan kegagalan pengobatan TB. Resistensi terhadap sekurang-kurangnya dua jenis OAT disebut dengan *Multi Drug Resistance Tuberculosis* (MDR-TB) (Setyawati, 2020: 73). MDR-TB merupakan masalah utama global karena mengancam pengobatan TB dan meningkatkan angka kematian. Kasus TB-MDR meningkat 10 % dari tahun sebelumnya pada tahun 2019. Berdasarkan TB report WHO 2019, estimasi kasus resistensi di Indonesia adalah 2,4% dari 13% kasus MDR-TB (Global tuberculosis report, 2020).

Ada beberapa faktor penyebab MDR-TB, yaitu kegagalan pengobatan atau pengobatan yang inadekuat, mutasi dari bakteri tuberkulosis, serta faktor imunitas dan genetik host. Polimorfisme gen telah disebutkan sebagai salah satu penyebab kerentanan seseorang terhadap tuberkulosis dan polimorfisme gen juga telah diteliti sebagai penyebab terjadinya MDR (Sinaga dkk., 2018: 155). Polimorfisme gen Vitamin D Receptor (VDR) telah dikaitkan dalam proses terjadinya TB MDR.

Polimorfisme gen VDR disebutkan dapat mempengaruhi eliminasi bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (Sinaga dkk., 2018: 155). Ketika terjadi infeksi bakteri *Mycobacterium tuberculosis*, vitamin D mengaktifkan makrofag mensintesis cathelicidin untuk mengeliminasi *Mycobacterium tuberculosis*. Polimorfisme ApaI merupakan salah satu tipe polimorfisme nukleotida tunggal gen VDR yang sangat fungsional dan penting. Terjadinya pembentukan alel varian akibat dari polimorfisme ApaI dapat mengakibatkan kelemahan fungsi VDR dan meningkatkan risiko terhadap infeksi TB (Areeshi dkk., 2017: 628).

Polimorfisme gen VDR juga telah diteliti perannya terhadap kerentanan seseorang menderita MDR-TB (Islami dkk., 2018: 540), tetapi masih belum menjawab kebutuhan tentang hubungan polimorfisme dan kerentanan menderita MDR-TB. Penelitian polimorfisme gen VDR ApaI pada kerentanan MDR-TB juga masih sangat terbatas, padahal penelitian ini sangat bermanfaat untuk tindakan pencegahan MDR-TB. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui polimorfisme gen VDR-ApaI pada MDR-TB di kota Medan.

METODE

Analisa polimorfisme dilakukan pada sampel darah 32 penderita non MDR TB dan 32 penderita MDR TB dari RS Haji Adam Malik Medan dan RS Khusus Paru Medan yang memenuhi kriteria penelitian. Isolasi DNA dilakukan pada sampel darah untuk memperoleh DNA.

Isolasi DNA dan Amplifikasi dengan Polymerase Chain Reaction (PCR)

Isolasi DNA dilakukan menurut protokol Wizard® Genomic DNA. Isolat DNA diamplifikasi dengan MyTaq HS Red Mix menggunakan primer VDR ApaI rs7975232 G>T GAGAAGCTGGGAGTGTGTCT (R) dan CAGAGGAAGCGGGAGATGAT (F) (Sibuea dkk., 2023: 49). PCR dilakukan sebanyak 25 siklus dengan tahap denaturasi pada suhu 95⁰ selama 15 detik, annealing pada suhu 56,5⁰ selama 15 detik dan ekstensi pada suhu 72⁰ selama 10 detik (Sibuea dkk., 2023: 49).

Restriction Length Polymorphism (RFLP)

Amplikon direstriksi dengan enzim Fastdigest ApaI sesuai dengan protokolnya. Hasil digesti divisualisasi dengan menggunakan elektroforesis gel agarosa (Sibuea dkk., 2023: 49).

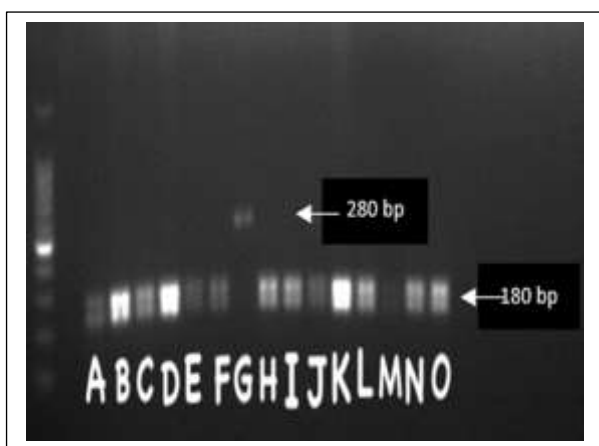
Elektroforesis dengan Gel Agarosa dan Visualisasi

Sebanyak 6,75 gr agarose dicampurkan dengan 135 mL TAE buffer 1x, diaduk dan dipanaskan dengan menggunakan *magnetic hot stirrer*, dan ditambahkan ethidium bromide. Larutan dituang ke *Casting Tray* dengan *Gel Comb* dan dibiarkan hingga mengeras. Amplikon PCR dipipet sebanyak 8 µL ke dalam sumur gel dan dilakukan elektroforesis selama 60 menit dengan tegangan 80 volt. Pembacaan hasil elektroforesis

dilakukan dengan menggunakan *Gel Documentation* (Sibuea dkk., 2023: 49).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Restriksi dengan enzim ApaI menghasilkan homozigot wildtype GG 420 bp dan 180 bp, heterozigot GT 280 bp dan 180 bp, homozigot varian TT 420 bp dan 280 bp (Gambar 1). Elektroforesis menggunakan gel agarosa tidak dapat menyaring di atas 400 bp, sehingga tidak tampak pita 420 bp.



Gambar 1. Elektroforesis Produk RFLP gen VDR ApaI

Tabel 1 menunjukkan bahwa mayoritas allele GG ditemukan pada jenis kelamin laki-laki dengan MDR-TB (37,5%) maupun non MDR-TB (31,3%). Allele GG juga lebih banyak ditemukan pada usia 18-49 tahun pada MDR-TB (31,3%) dan non MDR-TB (18,8%). Jenis kelamin laki-laki

menurunkan kondisi imun tubuh (Bawoente dkk., 2021; Sibuea dkk., 2023: 49). Usia produktif 18-49 tahun merupakan usia dengan aktivitas dan mobilitas yang lebih tinggi sehingga lebih rentan

Tabel 2. Hubungan Polimorfisme VDR ApaI rs7975232 G>T dengan MDR-TB

	MDR Tuberkulosis	Non MDR Tuberkulosis	Nilai p
GG	32(100%)	29(45.3%)	0.238
GT	0	2(3.1%)	
TT	0	1(1.6%)	
TOTAL	32(100%)	32 (100%)	

menderita MDR-TB (Kasron dkk., 2019: 171; Sibuea dkk., 2023: 49).

Allel varian TT hanya terdapat pada non MDR-TB dan allel heterozigot GT juga hanya terdapat pada non MDR-TB (Tabel 2). Sintesis cathelicidin oleh makrofag diaktifkan ketika vitamin D menempati reseptornya pada saat infeksi *Mycobacterium tuberculosis* terjadi. Adanya polimorfisme gen VDR akan mengganggu proses eliminasi, sehingga infeksi akan berlanjut. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa polimorfisme gen VDR ApaI varian TT hanya ditemukan pada TB, bukan pada MDR-TB. Hasil penelitian Siregar dkk menunjukkan tidak terdapat hubungan yang bermakna antara polimorfisme gen VDR ApaI dengan Tuberkulosis (Yahwardiah dkk., 2017: 1).

Penelitian ini menunjukkan terdapat hubungan yang signifikan antara polimorfisme gen

Tabel 1. Polimorfisme VDR ApaI rs7975232 G>T

		Polimorfisme gen VDR ApaI rs					
		GG		GT		TT	
		MDR Tuberkulosis	Non MDR Tuberkulosis	MDR Tuberkulosis	Non MDR Tuberkulosis	MDR Tuberkulosis	Non MDR Tuberkulosis
Jenis	Laki-laki	24(37.5%)	20(31.3%)	0	2(3.1%)	0	0
Kelamin	Perempuan	8(12.5%)	9(14.1%)	0	0	0	1(1.6%)
	<18 tahun	0	3(4.7%)	0	0	0	0
Usia	18-49 tahun	20(31.3%)	21(32.8%)	0	2(3.1%)	0	1(1.6%)
	>50 tahun	12(18.8%)	5(7.8%)	0	0	0	0

memiliki beban kerja yang lebih berat, kurang istirahat, dan banyak memiliki pola hidup yang tidak sehat seperti merokok dan minum alkohol. Laki-laki juga lebih sering beraktifitas diluar rumah sehingga sering terpapar polusi udara. Hal ini dapat mempengaruhi fisiologis paru dam

VDR ApaI dengan MDR-TB dengan nilai $p > 0,05$ (Tabel 2). Hasil penelitian Zhang dkk juga menemukan hal yang sama dan menyatakan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara polimorfisme ApaI dengan MDR-TB (Zhang dkk, 2019).

SIMPULAN

Allel varian TT hanya ditemukan pada TB (non MDR-TB) dan tidak pada MDR-TB. Tidak terdapat hubungan yang signifikan antara polimorfisme gen VDR ApAI dengan MDR-TB.

DAFTAR PUSTAKA

Areeshi MY, Mandal RK, Wahid M, Dar SA, Jawed A, Lohani M, Abdallah AMA, Khan S, Panda AK, Mishra BN, Haque S. Vitamin D Receptor ApAI (rs7975232) Polymorphism Confers Decreased Risk of Pulmonary Tuberculosis in Overall and African Population, but not in Asians: Evidence from a Meta-analysis. *Ann Clin Lab Sci*. 2017 Sep;47(5):628-637. PMID: 29066494.

Global tuberculosis report 2020 [Internet]. WHO. 2020 [cited 2021 Oct 11]. Available from: [https://www.google.com/search?rlz=1C1CHBD_enID968ID968&sxsrf=AOaemvJqekIM_M_E9o28FR0wQBnb4gEER5g:1633917162589&q=Global+tuberculosis+report+2020+%5BInternet%5D.+who.+2020.+p.+71.+A+available+from:+file:///F:/jurnal+KTI/TB+report+who+2020+\(journal+1\).pdf%250D](https://www.google.com/search?rlz=1C1CHBD_enID968ID968&sxsrf=AOaemvJqekIM_M_E9o28FR0wQBnb4gEER5g:1633917162589&q=Global+tuberculosis+report+2020+%5BInternet%5D.+who.+2020.+p.+71.+A+available+from:+file:///F:/jurnal+KTI/TB+report+who+2020+(journal+1).pdf%250D).

Islami MS, Bariana MI. Polimorfisme gen SLC11AI, ABCBI, dan VDR serta asosisasinya dengan Tuberkulosis Multidrug-Resistant. *Farmaka* [Internet]. 2018 Aug 18 [cited 2021 Aug 2];16(2). Available from: <http://jurnal.unpad.ac.id/farmaka/article/view/176083>.

Medapati RV, Suvvari S, Godi S, Gangiseti P. NRAMP1 and VDR gene polymorphisms in susceptibility to pulmonary tuberculosis among Andhra Pradesh population in India: a case-control study. *BMC Pulm Med*. 2017;17(1):89.

Setyawati AD, J H, Randi Y, Febriawati H, Andri J. Penatalaksanaan Pengobatan Tuberculosis Paru. *Jurnal Kesmas Asclepius*. 2020;2(2):73-80.

Sibuea, C., Pardosi, M., Simbolon, I., & Tampubolon, P. (2023). Polimorfisme Gen Vitamin D Receptor (VDR) BsmI pada Multi Drug Resistant Tuberculosis (MDR TB)". *Nommensen Journal of Medicine*, 9(1), 49-52.

<https://doi.org/https://doi.org/10.36655/njm.v9i1.1199>

Sinaga BYM, Amir Z, Siagian P. The role of FokI polymorphism of vitamin D receptor gene and vitamin D level in multidrug-resistant tuberculosis occurrence in Medan city, Indonesia. *Archives of Medical Science - Civilization Diseases*. 2018;3(1):153-7.

Yahwardiah S, Bintang YMS. Is There Any Impact of VDR Gene Polymorphism in Bataks Ethnic to Have Tuberculosis? *J of Health Science*. 2017;5(1).

Zhang Y, Zhu H, Yang X, Guo S, Liang Q, Lu Y, et al. Serum vitamin D level and vitamin D receptor genotypes may be associated with tuberculosis clinical characteristics: A case-control study. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(30):e11732.