

From GeneXpert to Whole Genome Sequencing (WGS): The Evolution of Detecting *rpoB* Resistance

Dari GeneXpert hingga Sekuensing Genom Lengkap (WGS): Perkembangan Deteksi Resistensi *rpoB*

Farrah Azzahra¹, Dwi Hilda Putri^{1*}, Yuni Ahda¹, Elsa Yuniarti¹

¹ Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang, West Sumatera, Indonesia

*Correspondence author: dwihildaputri.08@gmail.com

Abstract

This study aims to review the development of technologies for detecting *rpoB* gene mutations associated with rifampicin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. The method employed was a literature review of various scientific publications collected from sources such as Google Scholar, Scopus, and SINTA. The results of the study indicate significant technological evolution from conventional methods, such as the Niehl-Neelsen stain and culture, toward molecular-based platforms. GeneXpert MTB/RIF offers the advantage of rapid results less than 2 hours with high sensitivity, but has limitations in specifically detecting the RRDR region. Conversely, Whole Genome Sequencing (WGS) and Next-Generation Sequencing (NGS) provide comprehensive nucleotide-level resolution, enabling the detection of mutations outside traditional hotspots as well as heteroresistance conditions. Although GeneXpert is highly superior for rapid diagnosis, the integration of WGS into the national health system is crucial for comprehensive genomic surveillance and improving the precision of TB therapy in Indonesia.

Keywords: *rpoB* gene, GeneXpert, *Mycobacterium tuberculosis*, rifampicin resistance, Whole Genome Sequencing.

Abstrak

Kajian ini bertujuan untuk meninjau perkembangan teknologi deteksi mutasi gen *rpoB* yang berkaitan dengan resistensi rifampisin pada *Mycobacterium tuberculosis*. Metode yang diterapkan adalah studi pustaka terhadap berbagai publikasi ilmiah yang dikumpulkan melalui sumber seperti Google Scholar, Scopus, dan SINTA. Hasil studi menunjukkan adanya evolusi teknologi yang signifikan dari metode konvensional seperti Niehl-Neelsen dan kultur menuju platform berbasis molekuler. GeneXpert MTB/RIF menghasilkan keunggulan kecepatan hasil yakni kurang dari 2 jam dengan sensitivitas yang tinggi, namun keterbatasan dalam mendeteksi wilayah RRDR secara spesifik. Sebaliknya, Whole Genome Sequencing (WGS) dan Next-Generation Sequencing (NGS) memberikan resolusi nukleotida yang menyeluruh, memungkinkan deteksi mutasi di luar hotspot tradisional serta

kondisi heteroresistensi. Meskipun GeneXpert sangat unggul untuk diagnosis cepat, integrasi WGS ke dalam sistem kesehatan nasional sangat penting untuk pengawasan genomik yang komprehensif dan meningkatkan ketepatan terapi TB di Indonesia.

Kata kunci gen *rpoB*, GeneXpert, *Mycobacterium tuberculosis*, resistensi rifampisin, Whole Genome Sequencing.

Pendahuluan

Tuberculosis (TB) merupakan salah satu penyakit yang masih mengancam kesehatan seluruh masyarakat diseluruh dunia. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang seringkali menyerang paru-paru dan dapat menyebabkan kerusakan organ lainnya. TB diklasifikasikan sebagai penyakit yang disebabkan oleh droplet nuclei yang dilepaskan ke udara oleh orang yang terinfeksi selama fase aktif. Infeksi kebanyakan terjadi di dalam ruangan. Hal tersebut dikarenakan di bawah sinar matahari langsung basil tuberkel mati, sedangkan dapat bertahan selama beberapa jam di ruangan yang gelap dan lembab (Zalni *et al.* 2025).

World Health Organization (WHO) telah mengumumkan sebanyak 10,7 juta kasus TB telah menginfeksi masyarakat pada tahun 2022 dan meningkat menjadi 10,8 juta kasus pada tahun 2023 ini. Indonesia merupakan negara kedua tertinggi di dunia dengan beban kasus *Multidrug Resistant M.tuberculosis* (MDR-TB). *M.tuberculosis* penyebab TB dapat disembuhkan dengan pemberian anti tuberkulosis (OAT) yang tepat. Salah satu obat utama tuberkulosis adalah rifampisin. Rifampisin menghambat pertumbuhan bakteri dengan berikatan secara kuat pada RNA polimerase dependen-DNA bakteri, sehingga menghambat sintesis RNA bakteri. Timbulnya resistensi terhadap obat pada *M.tuberculosis* disebabkan mutasi random pada kromosom bakteri. Proses mutasi tersebut terjadi secara spontan (Amalia *et al.*, 2015).

Resistensi terhadap Rifampicin (RIF) dalam pengendalian penyakit Tuberkulosis (TB) masih menjadi tantangan global terbesar hingga saat ini. RIF bekerja dengan cara menghambat enzim β subunit RNA polymerase yang dikodekan oleh gen *rpoB*. Namun apabila terjadi mutasi pada gen *rpoB* maka menyebabkan terjadinya resistensi terhadap obat RIF (Wang *et al.*, 2022). Variasi genetik akan mempengaruhi kemampuan suatu individu untuk bertahan hidup. Apabila dalam sebuah populasi semakin tinggi variasi genetik, maka semakin baik kemampuan individunya untuk beradaptasi terhadap perubahan lingkungan yang terjadi (Afionita *et al.*, 2025). Resistensi terhadap rifampisin secara genetik utamanya disebabkan oleh mutasi pada gen *rpoB* yang spesifik sekitar 95% mutasi terkait resistensi ditemukan pada wilayah yang dikenal sebagai *Rifampicin Resistance Determining Region* (RRDR). Resistensi antibiotik didefinisikan sebagai bakteri yang kebal terhadap obat antibakteri sehingga obat antibakteri tersebut tidak menghasilkan efek terapeutik pada dosis obat yang digunakan (Musdalipah *et al.*, 2022; Lestari *et al.*, 2023). WHO menetapkan resistensi terhadap RIF sering kali dianggap sebagai salah satu indikator MDR-TB yang sebagian besar mutasi gen *rpoB* terjadi pada 81 *hot spot* RRDR pada kodon 426-452 di *M. tuberculosis* (Li *et al.* 2020).

Kasus TB ini masih mengalami banyak tantangan seperti akses pengobatan, deteksi dini dan kepatuhan masyarakat selama proses pengobatan. Program pemerintah telah dikerahkan seperti peningkatan skrining dan pelaporan kasus infeksi TB. Meskipun berbagai

upaya intervensi telah dilakukan selama beberapa dekade namun, jumlah kasus TB yang tidak terdeteksi masih cukup tinggi. Metode pemeriksaan berbasis mikroskopik konvensional yang paling sering digunakan dan dijadikan gold standar pemeriksaan *M. tuberculosis* adalah metode Ziehl Neelsen. Metode tersebut dapat dilakukan secara mudah, cepat, akurat, serta tidak memerlukan biaya mahal. Namun, metode tersebut memiliki sensitivitas rendah jika jumlah sampel terlalu banyak sehingga memengaruhi tingkat keterampilan teknis (Kesuma *et al.*, 2020). Pasien yang dicurigai menderita tuberkulosis menjalani pemeriksaan mikrobiologis untuk mengonfirmasi hasil. Pemeriksaan mikrobiologis merujuk pada pemeriksaan sampel biologis (dahak atau sampel lainnya), pemeriksaan kultur dan identifikasi *M. tuberculosis* atau metode diagnostik cepat yang telah direkomendasikan oleh WHO (Anggraeni *et al.*, 2023).

Diagnosis tuberkulosis khususnya tuberkulosis paru, dapat ditegakkan dengan pemeriksaan klinik (anamnesis terhadap keluhan penderita dan hasil pemeriksaan fisik), pemeriksaan laboratorium, dan pemeriksaan radiologik. Ketiga hasil pemeriksaan tersebut disatukan untuk diagnosis tuberkulosis. Pada umumnya metode yang digunakan adalah metode konvensional seperti pemeriksaan mikroskopik basil tahan asam (BTA) dan pemeriksaan kultur (Bilindade *et al.*, 2025). Pemeriksaan mikroskopik cukup cepat dan ekonomis akan tetapi sensitivitas dan spesifitasnya masih kurang sedangkan pemeriksaan kultur memerlukan waktu yang cukup lama. Pergeseran dari metode diagnostik konvensional berbasis kultur yang memerlukan waktu hingga beberapa minggu untuk memberikan hasil uji sensitivitas obat menuju metode molekuler telah menjadi titik balik dalam manajemen TB (Latifah, I. *et al.*, 2022). Kecepatan dan akurasi dalam mendeteksi perubahan nukleotida pada gen *rpoB* menjadi kunci utama dalam memutus rantai penularan dan memastikan pasien mendapatkan regimen pengobatan yang tepat sejak hari pertama diagnosis.

Evolusi teknologi deteksi molekuler telah berkembang sangat pesat, mulai dari penggunaan alat diagnostik cepat seperti GeneXpert MTB/RIF hingga teknologi mutakhir *Whole Genome Sequencing* (WGS). GeneXpert telah membawa revolusi dalam aksesibilitas diagnostik di tingkat fasilitas kesehatan primer dengan prosedur yang terotomasi dan waktu hasil yang singkat (WHO, 2020). Namun, seiring dengan dinamika evolusi bakteri, keterbatasan deteksi pada target genetik yang sempit mulai menunjukkan tantangan baru. Sebagai contoh, GeneXpert MTB/RIF hanya mendeteksi mutasi pada wilayah RRDR gen *rpoB*, sehingga mutasi resistensi yang berada di luar wilayah target dapat tidak teridentifikasi dan menyebabkan keterbatasan sensitivitas deteksi. Hal ini mendorong urgensi pemanfaatan teknologi deteksi yang mampu memberikan resolusi informasi genetik secara menyeluruh pada seluruh genom bakteri.

Maka perlu dikembangkan metode deteksi mutasi gen *rpoB* berbasis molekuler yang akurat, lebih cepat, dan efisien, serta mengidentifikasi wilayah gen tertentu pada segmen genom bakteri yang dapat digunakan secara tepat agar tidak terjadi kesalahan dalam screening maupun diagnosis untuk mengurangi angka kasus resistensi obat (Aulia, O.N, *et al.*, 2024). Dimulai dari penggunaan alat diagnostik cepat berbasis *Real-time PCR* seperti GeneXpert MTB/RIF yang mampu memberikan hasil dalam hitungan jam, hingga penggunaan *Whole Genome Sequencing* (WGS) yang menawarkan resolusi tingkat nukleotida untuk seluruh peta genom. Transformasi ini tidak hanya mempercepat diagnosis,

tetapi juga memperdalam pemahaman mengenai pola transmisi dan mekanisme resistensi baru di luar area "hot spot" RRDR.

Review ini bertujuan untuk mengkaji perkembangan metode deteksi mutasi resistensi gen *rpoB* berdasarkan hasil-hasil penelitian terkini dari berbagai platform, serta menganalisis bagaimana transisi teknologi ini membentuk masa depan pengawasan genomik tuberkulosis di tingkat global maupun nasional. Dengan tersusunnya kajian ini, diharapkan dapat menjadi referensi bagi peneliti untuk menentukan platform diagnostik molekuler yang paling efektif dan efisien dalam mendeteksi strain MDR-TB, serta mendukung keberlanjutan program eliminasi Tuberkulosis genomik di Indonesia. Kajian ini juga menekankan pentingnya integrasi teknologi sekuensing dalam sistem kesehatan nasional sehingga keberhasilan deteksi dini dan ketepatan terapi bagi pasien TB dapat meningkat secara signifikan.

Bahan dan Metode

Metode yang digunakan dalam artikel review ini adalah studi pustaka (literature review) yang dilakukan untuk mengkaji berbagai publikasi ilmiah terkait mutasi gen *rpoB* pada *Mycobacterium tuberculosis*. Penelusuran literatur dilakukan secara sistematis melalui beberapa database ilmiah, yaitu Google Scholar, PubMed, Scopus, dan ScienceDirect menggunakan kata kunci "*rpoB* mutation", "rifampicin resistance", "tuberculosis", dan "*Mycobacterium tuberculosis*". Artikel review ini menganalisis sebanyak 13 artikel penelitian yang dipublikasikan dalam rentang tahun 2015–2025, tersedia dalam teks lengkap (*full text*), menggunakan bahasa Indonesia dan bahasa Inggris, serta memiliki relevansi dengan topik mutasi gen *rpoB* dan resistensi rifampisin. Sementara itu, artikel yang memiliki isi di luar topik pembahasan, tidak tersedia secara lengkap, maupun ditemukan dalam bentuk duplikasi tidak digunakan dalam proses analisis. Proses seleksi literatur dilakukan melalui beberapa tahap, yaitu identifikasi artikel berdasarkan kata kunci, penyaringan berdasarkan judul dan abstrak, evaluasi isi artikel secara menyeluruh (*full-text review*), hingga penetapan artikel yang memenuhi kriteria untuk dianalisis. Artikel yang terpilih kemudian dianalisis secara deskriptif dan komprehensif untuk memperoleh informasi mengenai jenis mutasi gen *rpoB* serta kaitannya dengan resistensi rifampisin pada *Mycobacterium tuberculosis*.

Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan hasil studi literatur yang telah dilakukan, terdapat beberapa referensi yang menampilkan beberapa metode deteksi resistensi gen *rpoB* baik secara kultur maupun molekuler.

Tabel 1. Hasil studi literatur

No.	Judul Penelitian	Jenis Metode	Tahapan Penelitian	Hasil Penelitian	Referensi
1.	Rapid Molecular Detection of Tuberculosis and Rifampin Resistance	GeneXpert MTB/RIF (RT-PCR berbasis cartridge)	Preparasi sampel sputum → ekstraksi otomatis → amplifikasi &	Sensitivitas keseluruhan tes MTB/RIF mencapai 99,8% untuk kasus positif pada smear	(Boehme et al., 2011)

No.	Judul Penelitian	Jenis Metode	Tahapan Penelitian	Hasil Penelitian	Referensi
2.	Validitas Metode Real Time PCR GeneXpert Pada Suspek TB Paru BTA Negatif di RSUD Dr. Doris Sylvanus	Kultur dan GeneXpert/MTB RIF (berbasis RT-PCR)	deteksi mutasi rpoB Preparasi sampel sputum → beberapa diinokulasikan ke media Loweinstein → ekstraksi dan proses deteksi rpoB	dan kultur selama ±2 jam. Nilai sensitivitas 81,8%, spesifitas 96,5%, nilai prediksi positif 90%, dan nilai prediksi negatif 93,3% selama ±2 jam.	(Permatasari, S., et al., 2021)
3.	Perbandingan Hasil Pemeriksaan Tuberkulosis Metode GeneXpert dan Ziehl-Neelsen di Rumah Sakit X Yogyakarta	GeneXpert dan Ziehl Neelsen	180 sampel dengan simple random sampling dimana 90 sampel diuji dengan GeneXpert, dan 90 sampel lainnya diuji dengan Ziehl-Neelsen	GeneXpert mendeteksi 25 kasus positif TB, sedangkan Ziehl-Neelsen mendeteksi 24 kasus TB.	(Bilindade, et al., 2025)
4.	Evaluation of Xpert MTB/RIF Assay for Diagnosis of Pulmonary TB	GeneXpert MTB/RIF	Pengambilan sputum → proses cartridge → analisis otomatis	Pada 34 (1,3%) sampel uji Xpert MTB/RIF hasilnya positif dan 1 sampel terdeteksi resistensi RIF	(Özkütük, N., & Sürücüoğlu, S., 2014)
5.	Deteksi Gen rpoB Resistensi Rifampisin Menggunakan Uji GeneXpert MTB/RIF pada Kasus Tuberkulosis Paru di Rumah Sakit Spesialis Komprehensif Debre Tabor, Ethiopia Barat Laut	GeneXpert MTB/RIF	Preparasi sampel → Amplifikasi DNA → Analisis mutasi	Dari 12.981 kasus TB diduga 1160/12.891 terdeteksi positif TB sementara 82/1160 terdeteksi resistensi terhadap rifampicin.	(Sharew et al. 2024)
6.	Line probe assay for detection of Mycobacterium tuberculosis complex: An experience from Central India	Line Probe Assay (LPA)	Ekstraksi DNA → PCR amplifikasi → hibridisasi probe → interpretasi pita	Isolat kultur dari 18 sampel ini, pita DNA terlihat pada 10 di antaranya.	(Desikan et al., 2017)

No.	Judul Penelitian	Jenis Metode	Tahapan Penelitian	Hasil Penelitian	Referensi
7.	Detection of rifampicin-resistance mutations in Mycobacterium tuberculosis	PCR konvensional + Sanger sequencing	Ekstraksi DNA → PCR → purifikasi → sekuensing → analisis mutasi	Teridentifikasi 15 mutasi berbeda di antara 66 strain M tuberculosis dengan fenotipe resisten rifampisin. Ser531 dan His526 memiliki frekuensi mutasi kodon paling tinggi.	(Telenti <i>et al.</i> , 1993).
8.	Whole-genome sequencing for prediction of Mycobacterium tuberculosis drug susceptibility and resistance: a retrospective cohort study	Whole Genome Sequencing (WGS)	Ekstraksi DNA → library prep → sequencing → analisis bioinformatika	Mutasi paling dominan yakni katG S315T dan rpoB S450L.	(Walker <i>et al.</i> , 2015)
9.	Comparison of GeneXpert and WGS in Detecting Rifampicin Resistance	GeneXpert (berbasis rapid) vs WGS	Pengujian sampel dengan dua metode → perbandingan hasil	WGS mendeteksi empat (3%) dari 127 pasien terinfeksi tuberculosis resisten multidrug	(Pankhurst <i>et al.</i> , 2016)
10.	Molecular genetic basis of antimicrobial agent resistance in Mycobacterium tuberculosis: 1998 update	PCR + analisis mutasi	Amplifikasi gen rpoB → analisis sekuens → identifikasi RRDR	M. tuberculosis memiliki 35 mutasi titik yang berbeda, di wilayah inti 81 bp RRDR dari rpoB pada kodon 426–452.	(Ramaswamy & Musser, 1998).
11.	Application of Targeted Next-Generation Sequencing Assay on a Portable Sequencing Platform for Culture-Free Detection of Drug-Resistant Tuberculosis from Clinical Samples	Next-Generation Sequencing (NGS) berbasis MinION.	Preparasi DNA → library prep → sequencing → analisis pasca sequencing	Mendeteksi 3 strain RIF, resisten isoniazid, pirazinamid PZA dan mutasi minor lainnya	(Cabibbe <i>et al.</i> , 2020).
12.	Comparison of GeneXpert and line	LPA vs GeneXpert	Preparasi sampel → Uji	GeneXpert memiliki sensitivitas	(Aricha <i>et al.</i> , 2019)

No.	Judul Penelitian	Jenis Metode	Tahapan Penelitian	Hasil Penelitian	Referensi
	probe assay for detection of Mycobacterium tuberculosis and rifampicin-mono resistance at the National Tuberculosis Reference Laboratory, Kenya		paralel dua metode → evaluasi sensitivitas & spesifisitas	sebesar 62,2% dan spesifisitas sebesar 43,2%. Sedangkan LPA memiliki sensitivitas dan spesifisitas masing-masing sebesar 99,2% dan 26,9%.	
13.	Whole genome sequencing of Mycobacterium tuberculosis: current standards and open issues	Review Literatur	Pengumpulan artikel → analisis data terkini	WGS telah menjadi standar untuk epidemiologi molekuler MTBC serta studi studi mengelompokkan strain.	(Meehan et al., 2019)

Berdasarkan hasil review terhadap berbagai sumber penelitian, dapat terlihat bahwa perkembangan metode deteksi resistensi gen *rpoB* pada *Mycobacterium tuberculosis* mengalami kemajuan yang signifikan, terutama dari segi sensitivitas, kecepatan, dan cakupan deteksi mutasi. Uji GeneXpert MTB/RIF adalah Tes Amplifikasi Asam Nukleat (NAAT) yang menggunakan kartrid sekali pakai untuk meminimalkan kontaminasi silang. GeneXpert MTB/RIF dapat mendeteksi kompleks MTB dan resistensi rifampisin dari dahak atau spesimen lain dengan waktu penyelesaian kurang dari 2 jam. Karakteristik metode GeneXpert memiliki validitas yaitu nilai sensitivitas, spesifisitas, nilai prediksi positif, nilai prediksi negatif serta akurasi yang tinggi untuk menegakkan diagnosis tuberkulosis paru sehingga dapat digunakan sebagai alat skrining untuk menjangkau pasien yang menderita TB paru dan mendeteksi pasien yang menderita TB paru sehingga pasien dapat menerima pengobatan terapi.

Penelitian Boehme et al., (2011) menjelaskan bahwa dari 1462 pasien sebanyak 4386 sampel yang diuji dengan metode GeneXpert, 567 diantaranya diperoleh TB positif dan 174 (11,9%) diantaranya diperoleh hasil negatif. Pada 209 dari 211 pasien terdeteksi resisten rifampicin dan 506 pasien terdeteksi rentan terhadap rifampicin yang diperoleh hasil sensitivitas sebesar 99,1% dan spesifitas sebesar 100%. Pada penelitian mereka ditemukan sebanyak 16 mutasi di titik yang berbeda yaitu pada kodon 516, 526, dan 531 gen *rpoB*. Pada penelitian Permatasi, S., et al., (2021) mendapatkan sensitivitas sebesar 92,5% dan spesifitas tinggi pada uji GeneXpert sehingga metode GeneXpert tersebut dapat digunakan sebagai alat skrining gen untuk proses selanjutnya. Penelitian Bilindade et al., (2025) dengan menggunakan tes GeneXpert, diperoleh hasil sensitivitas sebesar 100% dan spesifitas sebesar 98,4%. Peneliti juga membandingkan dengan uji Ziehl-Neelsen yang hanya mampu mendeteksi Basil Tahan Asam (BTA) saja. Pada penelitian Özkütük, N., & Sürücüoğlu, S., (2014) memperoleh hasil uji GeneXpert dengan nilai sensitivitas sebesar 73,9% dan spesifitas

sebesar 98,6%. Metode GeneXpert tersebut juga memanfaatkan 81 pasangan basa dari gen MTB dan 5 probe.

Kemudian pada penelitian terkini pada tahun 2024 oleh Sharew *et al.*, dengan memanfaatkan tes GeneXpert, peneliti memperoleh dari 12.981 kasus TB diduga 1160/12.891 terdeteksi positif TB sementara 82/1160 terdeteksi resistensi terhadap rifampicin. Hasil juga bisa disebabkan oleh perbedaan geografis, metodologi (ukuran sampel, metode diagnosis resistensi obat, dan peserta penelitian), epidemiologi TB (organisasi sistem perawatan TB, fitur proses pengobatan TB, serta peraturan kesehatan dan jaminan sosial), lokasi penelitian, periode penelitian, dan praktik pemantauan serta pengendalian MDR-TB. Pada penelitian terdahulu, uji GeneXpert memiliki nilai rata-rata sensitivitas sebesar 58-100% dan spesifitas sebesar 86-100%. Nilai sensitivitas tes GeneXpert dipengaruhi oleh banyaknya jumlah basil didalam sampel klinis. Metode GeneXpert adalah teknologi deteksi resistensi gen yang canggih namun memerlukan biaya yang tinggi untuk instrumen dan tes metode dan hanya mampu mendeteksi mutasi pada wilayah Rifampicin Resistance Determining Region (RRDR), sehingga mutasi yang berada diluar wilayah RRDR berpotensi tidak terdeteksi oleh GeneXpert

Mengingat situasi global MDR-TB termasuk deteksi resistensi obat rifampicin di antara pasien TB, assay garis probe (LPA) diperkenalkan. LPA adalah teknik cepat yang berbasis reaksi berantai polimerase (PCR) yang digunakan untuk mendeteksi kompleks MTB serta sensitivitas obat terhadap rifampisin dan isoniazid. Pada penelitian Desikan *et al.*, (2017) memperoleh hasil isolat kultur dari 18 sampel, pita DNA terlihat pada 10 di antaranya. Alat diagnostik molekuler untuk diagnosis MDR-TB secara efektif mengatasi masalah waktu tunggu yang lama terkait dengan pengujian kultur dan sensitivitas walaupun biaya yang tinggi telah menghambat penerapan luas dari tes-tes ini. Dengan diperkenalkannya LPA untuk diagnosis cepat TB resisten obat, telah terjadi pengurangan signifikan dalam waktu untuk memulai pengobatan pada kasus yang dicurigai MDR7. Sebuah studi validasi multisitus dari India menemukan LPA sebagai alat yang sensitif dan spesifik untuk deteksi resistensi rifampisin pada spesimen dahak. Metode seperti Line Probe Assay (LPA) dan Next-Generation Sequencing (NGS) memberikan alternatif dengan kemampuan deteksi mutase yang lebih detail dan luas. LPA memungkinkan identifikasi mutasi spesifik melalui proses hibridisasi probe dengan tingkat spesifitas yang tinggi, meskipun memerlukan tahapan laboratorium yang lebih kompleks dibandingkan GeneXpert.

Kemudian penelitian Telenti *et al.*, (1993) mendapatkan hasil sampel teridentifikasi 15 mutasi berbeda di antara 66 strain M tuberculosis dengan fenotipe resisten rifampisin. Ser531 dan His526 memiliki frekuensi mutasi kodon paling tinggi. Peneliti menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) sebagai tes skrining cepat untuk mutasi karena telah terbukti yang menjadi pendekatan yang sukses untuk mendeteksi substitusi satu nukleotida. PCR adalah metode revolusioner yang dikembangkan pada tahun 1980-an oleh Kary Mullis. PCR didasarkan pada penggunaan kemampuan DNA polimerase untuk mensintesis untai DNA baru yang melengkapi untai template yang tersedia. Karena DNA polimerase hanya dapat menambahkan satu nukleotida pada gugus 3'-OH yang sudah ada, diperlukan primer yang memiliki kemampuan untuk menambahkan nukleotida pertama. PCR merupakan metode pilihan untuk amplifikasi DNA, baik sebagai teknik analitis maupun diagnostik, karena dengan cepat menghasilkan sejumlah besar salinan dari urutan DNA target (Wijaya *et al.*, 2022; Marmioli & Elena, 2007.) Namun, PCR memungkinkan

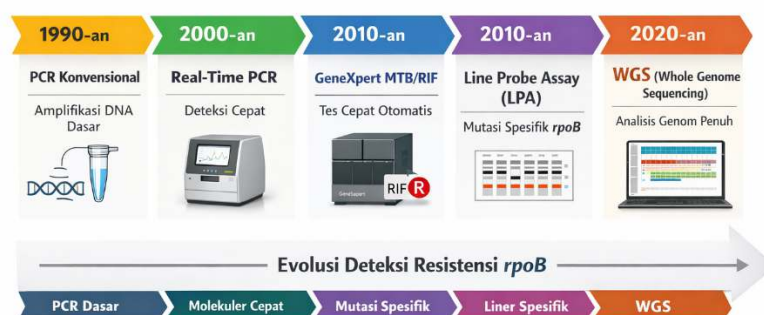
pengolahan sejumlah besar sampel, dengan hasil tersedia dalam waktu 48 hingga 72 jam. Otomatisasi dan penerapan metode non-radioaktif akan menyelesaikan beberapa masalah teknis yang membatasi penggunaan luas PCR. Dengan seiring perkembangan teknologi, perkembangan paling berpengaruh terhadap dunia diagnostik yakni penggunaan *Whole Genome Sequencing* (WGS), yang memungkinkan analisis seluruh genom *Mycobacterium tuberculosis* secara menyeluruh. Metode ini tidak hanya mampu mendeteksi mutasi gen *rpoB*, tetapi juga pada gen lain yang terkait dengan resistensi obat TB. Pada penelitian Walker *et al.*, (2015) memperoleh mutasi gen paling dominan yakni katG S315T dan *rpoB* S450L. Karakterisasi semua mutasi dari WGS menawarkan keuntungan dibandingkan dengan uji garis probe dan uji molekuler komersial lainnya. Pertama, data dari sekuensing seluruh genom dapat disaring untuk semua penentu resistensi, menghasilkan sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan mutasi yang hanya berdasarkan uji garis probe. Meskipun demikian, implementasi WGS masih menghadapi kendala seperti biaya yang tinggi, kebutuhan infrastruktur, serta analisis bioinformatika yang kompleks.

Diagnosis tuberkulosis yang cepat dan pasti pada pemeriksaan klinik rutin sangat sulit ditegakkan. Metode uji mikrobiologi masih memiliki beberapa kelemahan, seperti teknik kultur memerlukan waktu yang relatif lama dan cukup sulit untuk menumbuhkan mikroorganisme pada media selektif diferensial. Teknik alternatif yakni menggunakan teknik PCR, karena metode PCR tidak memerlukan waktu lama dalam prosesnya dan hasil yang spesifik, efisiensi dan juga memiliki akurasi yang sangat tinggi (Putri *et al.*, 2021). Penelitian oleh Ramaswamy & Musser pada tahun 1998 menguji sampel menggunakan metode PCR lalu menganalisis hasil sequencing, hasil uji tersebut terdeteksi MTB memiliki 35 mutasi titik yang berbeda, di wilayah inti 81 bp RRDR dari *rpoB* pada kodon 426–452. Metode PCR merupakan teknologi yang dibidang cukup murah dan sederhana, namun sayangnya teknologi ini tidak dapat langsung mendeteksi kodon serta wilayah gen yang memiliki mutasi.

Sementara itu, penggunaan diagnostik cepat yang direkomendasikan oleh WHO (WRDs), Xpert MTB/RIF Ultra (Cepheid, Sunnyvale, CA), dan assay line probe (LPA) untuk digunakan pada sampel klinis langsung telah berkontribusi secara signifikan terhadap peningkatan jumlah kasus TB RIFr yang terdeteksi secara global dan telah mengurangi keterlambatan diagnostik dan pengobatan. Namun, WRDs saat ini dirancang hanya untuk memeriksa wilayah genom pendek yang mengandung mutasi dengan prevalensi tinggi (yaitu, "hot spot") yang terkait dengan resistensi fenotipik terhadap sebagian besar, tetapi tidak semua, obat lini pertama dan lini kedua. Selain itu, WRDs saat ini tidak dapat sepenuhnya membedakan mutasi yang menyebabkan resistensi tingkat rendah dan tinggi, atau mutasi yang tidak terkait dengan resistensi, dan tidak dapat dengan mudah disesuaikan untuk mendeteksi wilayah genom baru yang terkait dengan resistensi terhadap obat TB baru dan obat TB yang digunakan kembali yang baru-baru ini disetujui untuk pengobatan oleh WHO. Next Generation Sequencing (NGS) dari kompleks *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) dapat memberikan data yang mendalam dan komprehensif tentang semua mutasi resistensi yang relevan secara klinis dan merupakan alternatif utama untuk metode DST fenotipik dan molekuler yang ada yang saat ini digunakan untuk mendiagnosis TB resisten obat (DR-TB). Pada penelitian Cabbibe *et al.*, (2020) berhasil mendeteksi 3 strain RIF, resisten isoniazid, pirazinamid PZA dan mutasi minor lainnya. Pelaksanaan sekuensing seluruh genom (WGS) yang efektif di lingkungan klinis, bagaimanapun, saat ini terbatas oleh

kebutuhan untuk langkah kultur TB awal untuk menghasilkan beban bakteri yang cukup agar sekuensing berhasil.

Metode berbasis molekuler mendeteksi materi asam nukleat seperti Metode GeneXpert dan LPA keduanya mampu mendeteksi mutasi yang menyebabkan resistensi terhadap Rifampisin. Selain itu, LPA juga dapat mendeteksi mutasi yang terkait dengan obat isoniazid. Meskipun tersebar luas dalam sistem perawatan kesehatan Kenya, kinerja kedua uji ini belum dievaluasi untuk menentukan kinerjanya dalam deteksi TB dan resistensi obat terkait. Pada metode LPA melibatkan tiga proses yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi PCR multiplex, dan hibridisasi balik. Pada penelitian Aricha *et al.*, (2019) uji GeneXpert dapat mendeteksi 142 (76,5%) dan LPA mendeteksi 167 (89,8%) sampel sebagai positif. Dalam hal sensitivitas, spesifisitas, dan nilai prediktif, GeneXpert mencatat sensitivitas sebesar 62,2% dan spesifisitas sebesar 43,2% dengan nilai prediktif positif dan negatif masing-masing sebesar 79,0% dan 28,4%. LPA melaporkan sensitivitas dan spesifisitas masing-masing sebesar 99,2% dan 26,9% dengan nilai prediktif positif dan negatif masing-masing sebesar 70,7% dan 94,7%. Dari data tersebut dapat dikatakan bahwa LPA memiliki karakteristik kinerja diagnostik yang lebih baik dibandingkan GeneXpert ketika menggunakan mikroskopi smear. Kemudian pada tahun 2019, penelitian Meehan *et al.*, telah mengkaji beberapa sumber referensi data terkini dan mengemukakan bahwa WGS telah menjadi standar untuk epidemiologi molekuler MTBC serta studi studi mengelompokkan strain. Untuk memahami perkembangan teknologi deteksi resistensi gen *rpoB* secara molekuler dari masa ke masa.



Gambar 1. Perkembangan alat deteksi resistensi gen *rpoB*

Perkembangan metode deteksi resistensi gen *rpoB* pada MTB menunjukkan pergeseran signifikan dari teknik konvensional menuju pendekatan molekuler yang semakin cepat dan komprehensif. Pada era 1990-an, metode yang digunakan masih didominasi oleh PCR konvensional, yang berfungsi untuk mengamplifikasi DNA target untuk mendeteksi mutasi spesifik secara langsung. Meskipun metode ini menjadi dasar penting dalam diagnosis molekuler, namun keterbatasannya dalam mengidentifikasi resistensi rifampisin menyebabkan perlunya pengembangan teknologi lanjutan. Kemudian pada era 2000-an, teknologi berkembang menjadi real-time PCR yang memungkinkan deteksi DNA secara lebih cepat dan sensitif melalui sistem fluoresensi. Metode tersebut tidak hanya mempercepat waktu diagnosis, tetapi juga mulai memungkinkan identifikasi mutasi tertentu dengan bantuan probe spesifik. Namun, cakupan deteksi masih terbatas pada target yang telah diketahui sebelumnya, sehingga belum mampu memberikan gambaran mutasi secara menyeluruh.

Kemudian pada dekade tahun 2010-an dengan hadirnya GeneXpert MTB/RIF, yang merupakan sistem berbasis PCR otomatis. Teknologi ini memungkinkan deteksi simultan MTB dan resistensi rifampisin dalam waktu sekitar dua jam. Keunggulan utama metode ini adalah kemudahan penggunaan dan minimnya risiko kontaminasi, sehingga sangat cocok untuk skrining awal, terutama di fasilitas kesehatan dengan sumber daya terbatas. Selain itu, metode LPA juga berkembang pada periode yang sama dengan pendekatan berbasis PCR dan hibridisasi probe. LPA dinyatakan mampu mendeteksi mutasi spesifik pada gen *rpoB* secara lebih rinci dibandingkan GeneXpert. Hal ini memberikan keunggulan dalam analisis resistensi obat secara lebih detail, meskipun membutuhkan fasilitas laboratorium yang lebih kompleks. Seiring perkembangan sekarang, yaitu tahun 2020-an, penggunaan Whole Genome Sequencing (WGS) menjadi tonggak penting dalam diagnostik TB. WGS memungkinkan analisis seluruh genom *Mycobacterium tuberculosis*, sehingga tidak hanya mendeteksi mutasi pada gen *rpoB*, tetapi juga mutasi lain yang berkontribusi terhadap resistensi berbagai obat. Pendekatan ini memberikan informasi yang sangat komprehensif, termasuk dalam aspek epidemiologi molekuler. Namun demikian, keterbatasan biaya, infrastruktur, dan kebutuhan analisis bioinformatika masih menjadi tantangan dalam implementasi luas metode ini. Adapun perbedaan serta persamaan alat deteksi resistensi gen *rpoB* dapat dilihat pada tabel 2 dan 3.

Tabel 2. Perbedaan alat deteksi resistensi TB

Metode	Prinsip	Target Deteksi	Waktu	Kelebihan	Kekurangan
PCR Konvensional	Amplifikasi DNA	Ada/Tidak ada gen <i>rpoB</i>	4-6 jam	Sederhana	Tidak bisa langsung deteksi mutasi spesifik
Real-Time PCR	Amplifikasi + deteksi fluoresensi	Mutasi tertentu (apabila menggunakan probe)	2-3 jam	Lebih cepat dan sensitif	Terbatas pada mutasi target
GeneXpert	PCR otomatis berbasis cartridge	<i>rpoB</i> (RRDR)	±2 jam	Cepat, otomatis, minim kontaminasi	Hanya target rifampicin
Line Probe Assay (LPA)	PCR + hibridisasi probe	Mutasi spesifik <i>rpoB</i>	1-2 hari	Bisa identifikasi mutasi spesifik	Butuh lab & teknis
Next Target Sequencing (NGS)	Sekuensing Gen tertentu	Banyak Mutasi <i>rpoB</i>	2-3 hari	Lebih komprehensif	Mahal + kompleks
Whole Genome Sequencing (WGS)	Sekuensing seluruh genom	Semua mutasi gen, contoh : <i>rpoB</i> , <i>InhA</i> , dll.	3-7 hari	Paling lengkap	Biaya tinggi dan analisis bioinformatika

Tabel 3. Persamaan alat deteksi resistensi rpoB

Aspek	Keterangan
Target Utama	Mendeteksi gen rpoB
Prinsip dasar	Berbasis DNA <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Tujuan Klinis	Identifikasi Resistensi OAT
Pendekatan	Termasuk ke dalam NAATs (kecuali WGS)
Sampel	Sputum
Output	Ada/Tidak mutasi

Pada tabel 3, dikatakan bahwa alat diagnostik seperti PCR, GeneXpert, LPA, NGS, maupun WGS sama-sama bertujuan untuk mendeteksi gen rpoB yang berbasis DNA MTB. Sampel yang diuji untuk metode-metode tersebut adalah sampel dahak (sputum) dan akan dianalisis untuk mengidentifikasi ada/tidak adanya mutasi.

Secara keseluruhan, setiap metode memiliki kelebihan dan kekurangan yang perlu dipertimbangkan sesuai dengan kebutuhan diagnostik. Metode sederhana seperti PCR konvensional dan real-time PCR cocok untuk deteksi awal, sementara metode seperti GeneXpert dan LPA lebih unggul dalam mendeteksi resistensi secara cepat dan spesifik. Di sisi lain, teknologi sekuensing seperti WGS memberikan gambaran paling lengkap, namun memerlukan sumber daya yang lebih besar. Oleh karena itu, pemilihan metode yang tepat harus mempertimbangkan keseimbangan antara kecepatan, akurasi, dan ketersediaan fasilitas.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan, bantuan, dan kontribusi dalam penyusunan artikel ini, baik secara langsung maupun tidak langsung. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada dosen pembimbing atas arahan, bimbingan, masukan, dan dukungan yang diberikan selama proses penyusunan artikel literatur ini sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada seluruh dosen yang terlibat sebagai author atas kontribusi ilmiah, saran, serta koreksi yang membangun dalam penyusunan artikel.

Daftar Pustaka

- Afionita, S., Putri, D.H., Achyar, A., Yuniarti, E., 2025. "Jurnal Biologi Tropis Genetic Variation Analysis of L1 Gene HPV-16 Using RFLP in Silico." (2015).
- Aricha, S.A., Kingwara, L., Mwirigi, N.W., Chaba, L., Kiptai, T., Wahogo, J., Otwaye, J.S., Onyango, P.O., Karanja, M., Ayieko, C., Matu, S.W., 2019. "Comparison of GeneXpert and Line Probe Assay for Detection of Mycobacterium Tuberculosis and Rifampicin-Mono Resistance at the National Tuberculosis Reference." : 1–8.
- Aulia, O.N., Putri, D.W., Faizal, I., 2024. "Development and Optimization of SARS-CoV-2-Specific Primers for Accurate Diagnosis: A Case Study in West Sumatra, Indonesia." *Althea Medical Journal* 11(4): 241–48.
- Bilindade, A., Probowati, W., Putri, W.R., 2025. "Perbandingan Hasil Pemeriksaan Tuberkulosis

- Metode GeneXpert Dan Ziehl-Neelsen Di Rumah." 4(3): 639–50.
- Cabibbe, A.M., Spitaleri, A., Battaglia, S., Colman, R.E., Suresh, A., Uplekar, S., Rodwell, T.C., Cirillo, M., 2020. "Cross Application of Targeted Next-Generation Sequencing Assay on a Portable Sequencing Platform for Culture-Free Detection of Drug-Resistant Tuberculosis from Clinical Samples." 58(10): 1–9.
- Desikan, P., Panwalkar, N., Mirza, S.B., Chaturvedi, A., Ansari, K., Varathe, R., 2017. "Line Probe Assay for Detection of Mycobacterium Tuberculosis Complex: An Experience from Central India." (January): 70–73.
- Li, Y.F., Zeng, X.Q., Li, Y., Wang, L., Zhuang, H., Wang, Y., Tang, J., Wang, H.L., Xiong, M., Yang, F.Y., Yuan, X.Z., He, G.H., 2020. "MULTI-FLORET SPIKELET 2, a MYB Transcription Factor, Determines Spikelet Meristem Fate and Floral Organ Identity in Rice." *Plant Physiology* 184(2): 988–1003.
- Meehan, C.J., Goig, G.A., Kohl, T.A., Verboven, L., Dippenaar, A., Ezewudo, M., 2019. *Mycobacterium tuberculosis*: current standards and open issues. *Nat Rev Microbiol*, 17(9):533–545. doi:10.1038/s41579-019-0214-5. Pankhurst, Louise J et al. "Rapid , Comprehensive , and Affordable Mycobacterial Diagnosis with Whole-Genome Sequencing: A Prospective Study." *The Lancet Respiratory* 4(1): 49–58. [http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600\(15\)00466-X](http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600(15)00466-X).
- Permatasari, S., & Felicia. F., 2021. "VALIDITAS METODE REAL TIME PCR GENEXPERT PADA SUSPEK TB PARU BTA NEGATIF DI RSUD Dr . DORIS SYLVANUS Validity of the Real Time PCR GeneXpert Method for Smear Negative Suspect Pulmonary TB in RSUD Dr . Doris Sylvanus."
- Catharina, C. Boehme, M.D., Pamel, N., M.D., Hillemann, D., Mark P. Nicol, Ph.D., Shubhada Shenai, Ph.D., Fiorella Krapp, M.D., Jenny Allen, B.Tech., Rasim Tahirli, M.D., Robert Blakemore, B.S., Roxana Rustomjee, M.D., Ph.D., Ana Milovic, M.S., Martin Jones, Ph.D., Sean M. O'Brien, Ph.D., David H. Persing, M.D., Ph.D., Sabine Ruesch-Gerdes, M.D., Eduardo Gotuzzo, M.D., Camilla Rodrigues, M.D., David Alland, M.D., and Mark D. Perkins, M.D. . 2010. "Rapid Molecular Detection of Tuberculosis and Rifampin Resistance", 363(11): 1005–15.
- Özkütük, N., and Süheyla Sürücüoğlu. 2014. "Orta Prevalanslı Bölgede Akciğer ve Akciğer Dışı Tüberküloz Tanısında Xpert MTB / RIF Testinin Değerlendirilmesi Evaluation of the Xpert MTB / RIF Assay for the Diagnosis of Pulmonary and Extrapulmonary Tuberculosis in An." 48(2): 223–32.
- Putri, A.I., Achyar, A., Putri, D.H., and Ahda, Y., 2021. Primer design, in silico PCR and optimum annealing temperature for Escherichia coli detection in refillable drinking water samples . "Tropical Genetics." 1(2): 52–60.
- Ramaswamy, S, & Musser, J.M., 1998. "Molecular Genetic Basis of Antimicrobial Agent Resistance in Mycobacterium Tuberculosis : 1998 Update." 79: 3–29.
- Rev, Am, Van Damme, Am Rev, and Res Commun. 1991. "Detection of Rifampicin-Resistance Mutations In." : 647–51.
- Afionita, S., Putri, D.H., Achyar, A., Yuniarti, E., 2025 "Genetic Variation Analysis of L1 gene HPV-16 using RFLP in Silico" *Jurnal Biologi Tropis*. 25 (2): 1433 – 1439
- Sharew, B., Berhan, A., Almaw, A., Erkihun, M., Tiruneh, T., Kiros, T., 2024. "Detection of Rifampicin Resistance RpoB Gene Using GeneXpert MTB / RIF Assay in Pulmonary Tuberculosis Cases at Debre Tabor Comprehensive Specialized Hospital , Northwest Ethiopia." : 1–10.
- Walker, T.M., Kohl, T.A., Omar, S.V., Hedge, J., Del, C., Elias, O., Bradley, P., Iqbal, Z., Feuerriegel, S., Niehaus, K.E., Wilson, D.J., Clifton, D. A., Kapatai, G., Ip, C.L.C., Bowden, R., Drobniowski, F.A., Allix-béguec, C., Gaudin, C., Parkhill, J., Diel, R., Supply, P., Crook, D.W., Smith, E .G., Walker, A.S., Ismail, N., Niemann, S., 2015. "Whole-Genome Sequencing for Prediction of Mycobacterium Tuberculosis Drug Susceptibility and

- Resistance : A Retrospective Cohort Study." (appendix 1): 1193–1202.
- Wang, C., Wu, Z., Jiang, H., Shi, Y., Zhang, W., 2022. "Journal of Global Antimicrobial Resistance Global Prevalence of Resistance to Rifampicin in Mycobacterium Leprae : A Meta-Analysis." *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 31: 119–27. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2022.08.021>.
- Wijaya, N.N., Achyar, A., Putri, D.H., Farma, S.A., 2022. "Optimization of Specific PCR Conditions for Cows (*Bos taurus*) in Rendang Samples for Molecular-Based Halal Tests". *Tropical Genetics*." 2(1): 11–16.
- Zalni, A., Khairani, R.T., Barlian, E., Yuniarti, E., Handayuni, L., 2025. "Pengaruh Kondisi Ventilasi Dan Kepadatan Hunian Terhadap Kejadian TBC Di Kecamatan Lubuk Alung Kabupaten Padang Pariaman." 5(3): 30752–57.