

Pengaruh Mutasi Gen *pncA* *Mycobacterium Tuberculosis* Terhadap Serum *Transaminase* dan Serum Asam Urat pada Pasien *Tuberculosis Resisten Obat*

Yeni Vera¹, Bintang Y. M. Sinaga², Dedi Ardinata,³ Yahwardiah Siregar⁴

¹Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, Medan

²Departemen Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi

Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, RSUP H. Adam Malik, Medan

³Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, Medan

⁴Departemen Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, Medan

Abstrak

Latar Belakang: Efek samping Pyrazinamide (PZA) yang umum diketahui adalah hepatotoksitas dan pemblokiran sekresi asam urat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh mutasi gen *pncA* *Mycobacterium tuberculosis* terhadap serum transaminase dan serum asam urat pada pasien TB RO yang mendapatkan terapi PZA.

Metode: Penelitian quasi eksperimental di poli TB RO RSUP H. Adam Malik Medan terhadap 25 pasien TB RO. Mutasi gen dinilai dengan metode PCR-RFLP dan data hasil pemeriksaan serum transaminase dan serum asam urat diambil dari rekam medik periode Februari sampai Juni 2015.

Hasil: Mutasi gen *pncA* didapatkan pada 36% sampel. Terdapat perbedaan yang bermakna antara nilai serum SGOT baseline dan 4 minggu ($P=0,007$), baseline dan 8 minggu ($P=0,023$), serta nilai serum asam urat baseline dan 4 minggu ($P=0,011$). Tidak terdapat perbedaan perbedaan yang bermakna pada pengukuran serum SGPT. Tidak terdapat hubungan yang bermakna antara mutasi gen *pncA* dengan peningkatan serum transaminase (SGOT, SGPT) dan asam urat.

Kesimpulan: Terdapat peningkatan kadar serum transaminase dan asam urat pada pasien TB RO yang memiliki mutasi pada gen *pncA*. Mutasi gen *pncA* secara statistik bermakna terhadap peningkatan serum SGOT baseline dengan minggu ke-4 dan ke-8. Tidak terdapat hubungan yang bermakna antara mutasi gen *pncA* dengan kadar serum SGPT. Terdapat hubungan yang bermakna antara mutasi gen *pncA* dengan kadar serum asam urat baseline dan 4 minggu. Secara keseluruhan gen *pncA* (mutasi dan tidak mutasi) tidak memiliki hubungan yang bermakna dengan peningkatan kadar serum transaminase dan serum asam urat. (*J Respir Indo. 2018; 38: 150-7*)

Kata kunci: Mutasi gen *pncA*, TB RO, PZA, serum transaminase, serum asam urat

The Effect of *pncA* Gene mMutation of *Mycobacterium Tuberculosis* to Transaminase and Uric Acid Serum in MDR TB Patient

Abstract

Background: The common side effects of PZA treatment is the occurrence of hepatotoxicity and blocking the secretion of uric acid. This study aims to determine the effect of the *pncA* gene mutation of *Mycobacterium tuberculosis* to serum transaminase and serum uric acid in patients with MDR TB who had receive therapy with PZA.

Methods: Quasi-experimental test was conducted at MDR TB polyclinic in H. Adam Malik Medan Hospital of 25 patients with MDR TB. Mutations of genes was assessed by PCR-RFLP method and data of serum transaminase and serum uric acid retrieved from the medical records, between February until June 2015

Result: Thirtysix percent *pncA* gene mutation founded. Significance statistic test between mutation of *pncA* gene and SGOT serum in baseline Vs 4 weeks ($P=0,007$), baseline Vs 8 weeks ($P=0,023$) and uric acid serum baseline Vs 4 weeks ($P=0,011$). No statistically difference in SGPT serum. No correlation between *pncA* gene (mutation and no mutation) with transaminase serum and uric acid serum.

Conclusion: Transaminase serum and uric acid elevated in MDR TB patient with mutation in *pncA* gene. Mutation in *pncA* gene have a correlation with elevated SGOT serum compared between baseline, 4 and 8 weeks. No correlation between *pncA* gene mutation and SGPT. Mutation in *pncA* gene have a correlation with uric acid serum elevated in 4 weeks. No correlation between *pncA* gene (mutation and no mutation) with transaminase serum and uric acid serum elevated. (*J Respir Indo. 2018; 38: 150-7*)

Keywords: *pncA* gene mutation, MDR TB PZA, serum transaminase, serum uric acid

Korespondensi: Yeni Vera

Email: sinira_82@yahoo.com

PENDAHULUAN

Resistensi *M. tuberculosis* terhadap obat diayakini karena munculnya mutasi pada gen-gen yang mengkode protein penunjang aktivitas bakteri serta menonaktifkan obat tersebut.¹⁻³ Selain mutasi gen mekanisme resistensi pada bakteri dapat disebabkan oleh penghambatan aktivitas obat secara enzimatik, perubahan protein yang merupakan target obat, perubahan jalur metabolik, *effluks* obat dan lain-lain.^{4,5} Pyrazinamide (PZA) merupakan analog struktur nikotinamida, obat ini bekerja sebagai bakterostatik atau bakteriosidal yang membunuh *M. tuberculosis* dan bekerja efektif membunuh basil tuberkel semidorman secara invitro pada pH asam (pH 5,0-5,5).⁴ Dalam keadaan asam *M. tuberculosis* menghasilkan enzim *Pyrazinamidase (Pzase)* yang dikode oleh gen *pncA* dan berfungsi mengubah PZA menjadi bentuk aktif yaitu asam pirazinoat (POA/PA) sehingga PZA dianggap sebagai *prodrug*. Mutasi gen *pncA* merupakan mekanisme utama resistensi PZA.⁶⁻⁸ Risiko resistensi PZA meningkat pada pasien yang pernah mendapatkan PZA sebelumnya.

Resistensi terhadap PZA dapat terjadi tetapi pemberian PZA pada pasien *multidrug resistant tuberculosis* (tuberculosis resisten obat/TB RO) tetap dilakukan. Terapi TB RO dengan menggunakan beberapa jenis obat dapat menyebabkan beberapa permasalahan terkait toleransi terhadap obat-obatan tersebut. Efek samping yang sering ditemukan pada pemberian PZA adalah terjadinya hepatotoksitas dan pemblokiran sekresi asam urat.⁵ Penanda dini hepatotoksitas adalah peningkatan enzim *transaminase* didalam serum yang terdiri dari *aspartate amino transaminase/glutamate oxaloacetate transaminase* (AST/SGOT) yang disekresikan secara paralel dengan *alanin amino transferase/glutamate pyruvate transaminase* (ALT/SGPT) yang merupakan penanda yang lebih spesifik untuk mendeteksi adanya kerusakan hepar. Insidens hepatotoksitas yang tinggi pada pasien TB berkaitan dengan dosis dan lamanya penggunaan PZA.¹¹ Selain hepatotoksik metabolit POA akan mengalami oksidasi oleh *xanthine oksidase* dan dapat menyebabkan hiperurisemia

pada pasien TB. Insidens hiperurisemia pada pasien TB yang mendapatkan PZA bervariasi (43%-100%). Meskipun tanpa gejala kasus hiperurisemia yang berat dapat menyebabkan gagal ginjal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh mutasi gen *pncA* terhadap serum *transaminase* dan serum asam urat pada pasien TB RO yang mendapatkan obat Pyrazinamide.^{12,13,14}

METODE

Penelitian ini adalah studi *quasi eksperimental* dengan desain satu kelompok berpasangan (*paired*) yang terdiri dari 25 subjek TB RO yang memulai pengobatan bulan Februari sampai Juni 2015 di poliklinik TB RO Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) Haji Adam Malik Medan. Terhadap subjek penelitian dilakukan dua kali pengukuran *pre test* dan *post test* (*pre test-post test design without control*) serum *transaminase* dan serum asam urat. Sampel dipilih dengan teknik *consecutive sampling*. Kriteria inklusi penelitian ini adalah pasien TB RO yang mempunyai hasil *Xpert MTB/RIF* positif, memiliki hasil pemeriksaan serum *transaminase* dan serum asam urat dalam batas normal sebelum di berikan obat PZA, dan mengkonsumsi PZA minimal 8 minggu. Kriteria eksklusi penelitian ini adalah tidak bersedia ikut penelitian.

Untuk evaluasi gen *pncA* sampel yang digunakan adalah sputum TB RO. Sputum kemudian dihomogenisasi dan didekontaminasi dengan menggunakan natrium hidroksida 4% (NaOH 4%). Ekstraksi DNA menggunakan *TIANamp Genomic DNA Kit* (TIANGEN, Hilden, Germany) dengan prosedur yang sesuai. Gen *pncA* di amplifikasi dari *M. tuberculosis* dengan menggunakan pasangan primer *pncA-R* sebagai reverse dan *pncA-F* sebagai forward. Ukuran produk PCR yang diharapkan adalah 672-bp. Proses PCR dilakukan dengan menggunakan PCR *Applied Biosystem*. Semua pereaksi (DNA template, PCR Mix, ddH₂O) yang telah dicampur dan dimasukkan kedalam microtube PCR dan di bawah kondisi berikut (denaturasi awal pada 95°C/5 menit, 30 siklus

pada suhu 95°C/30 detik; 60°C/40 detik; 72°C/60 detik dan elongasi akhir pada 72°C/10 menit). Hasil amplifikasi disiapkan untuk dideteksi dengan teknik elektroforesis menggunakan gel elektroforesis agarosa 1,5%.

Uji mutasi gen *pncA* dilakukan dengan metode *restriction fragment length polymorphism* (RFLP) menggunakan enzim restriksi *BstEII* dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu 60°C. Hasil PCR dideteksi oleh elektroforesis gel agarosa 3% yang diwarnai dengan etidium bromida. *Mycobacterium tuberculosis* galur H37RV merupakan *wild type* yang digunakan sebagai kontrol. Produk RFLP terpanjang yang diperoleh adalah jika terdapat mutasi berbentuk band di regio 526 bp dan 146 bp, sedangkan *wild type* terbentuk band berukuran 423 bp, 146 bp, dan 103 bp DNA Produk PCR terdeteksi oleh elektroforesis gel agarosa 3% yang diwarnai dengan etidium bromida. Pemeriksaan serum transaminase dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometer ABBOTT dengan hasil yang dinyatakan dalam satuan U/L. Asam urat diukur dengan metode enzimatik dan dinyatakan dalam satuan mg/dl. Data diolah dengan menggunakan SPSS 10. Dilakukan uji non parametrik dengan T-Test.

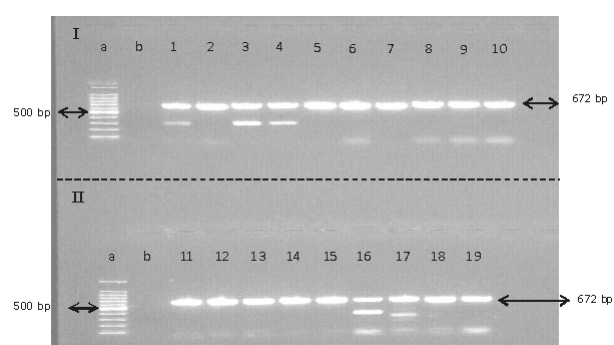
HASIL

Distribusi frekuensi berdasarkan karakteristik, demografi, riwayat penyakit dan kriteria suspek dapat dilihat pada tabel 1. Jumlah pasien TB RO pada bulan Februari hingga April yang menjadi subjek dalam penelitian ini adalah 25 orang yang terdiri dari 20 orang (80%) laki-laki dan 5 orang (20%) perempuan, dengan usia terbanyak pada rentang 21-40 th. Sebagian besar subjek tidak memiliki komorbid (56%) dengan kriteria kasus terbanyak adalah kasus kambuh (40%). Pemeriksaan gen *pncA* dengan metode PCR menunjukkan bahwa seluruh sampel memiliki gen *pncA* pada 672 bp seperti terlihat pada Gambar 1. Uji mutasi gen *pncA* menunjukkan 9 sampel mengalami mutasi (36%) dan 16 sampel tidak mengalami mutasi (64%) seperti terlihat pada Gambar 2.

Tabel 1. Distribusi Subjek Penelitian Berdasarkan karakteristik pasien TB RO

Karakteristik	n=25	%
Jenis Kelamin		
Laki - laki	20	80
Perempuan	5	20
Usia		
21- 40	14	56
41- 60	10	40
> 60	1	4
Riwayat Penyakit		
Diabetes	6	24
Hipertensi	5	20
Tidak ada penyakit kormobid	14	56
Kriteria suspek TB RO		
Gagal berobat kategori I	2	8
Gagal berobat Kategori II	7	28
Lalai pengobatan	3	12
Kambuh	10	40
BTA (+) setelah sisipan	3	12
Konsumsi alkohol		
Bukan peminum	14	56
Peminum alkohol	11	44
Narkoba		
Tidak menggunakan narkoba	20	80
Pengguna narkoba	5	20

TB RO: tuberculosis resisten obat



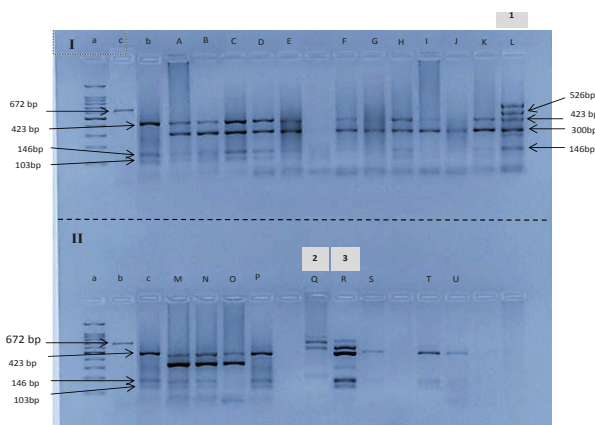
Gambar 1. Elektroforesis produk PCR 672bp fragmen gen *pncA* *M. tuberculosis* (primer *pncA-F* dan *pncA-R*) dalam agarose 1,5 %, 300bp fragmen gen *pncA* *M. avium*

Keterangan Gambar I dan II:

- Lane a : 100bp DNA Ladder/Marker
- Lane b : hasil PCR *M. tuberculosis* Strain H37RV (kontrol negatif)
- Lane 1-19 : hasil PCR gen *pncA* *M. tuberculosis*
- Lane 1, 3, 4, 16, 17 : hasil PCR gen *pncA* *M. tuberculosis* dan *M. avium*

Tabel 2 berisi hasil pengukuran nilai serum SGOT, SGPT dan Asam urat pada pasien TB RO yang memiliki mutasi pada gen *pncA* pada *baseline*, pemberian PZA 4 minggu dan 8 minggu. Terlihat pada tabel peningkatan mean kadar serum SGOT, SGPT dan asam urat. Nilai mean serum SGOT *baseline* 17,3±5,6, 4 minggu 24,7±8,1 dan 8 minggu 33,8±16,4. Nilai mean serum SGOT *baseline* 18,9±12,7, 4 minggu 21,3±13,1 dan 8 minggu 20,9±11,9. Nilai mean serum

asam urat *baseline* $7,4 \pm 2,36$, 4 minggu $11 \pm 3,04$ dan 8 minggu $10,8 \pm 4,05$. Hasil uji statistik menunjukkan tidak terdapat hubungan yang bermakna antara mutasi gen *pncA* dengan peningkatan serum *transaminase* (SGOT, SGPT) dan asam urat. Pada uji T-test terhadap nilai mean pengukuran pada *baseline*, 4 minggu dan 8 minggu didapatkan perbedaan yang bermakna antara nilai serum SGOT *baseline* dan 4 minggu, nilai serum SGOT 4 minggu dan 8 minggu serta nilai serum asam urat *baseline* dan 4 minggu. Tidak terdapat perbedaan perbedaan yang bermakna pada pengukuran serum SGPT.



Gambar 3. Elektroforesis produk PCR-RFLP dengan *pncA* dalam agarose 3%. Ukuran band 103bp, 146bp, 423bp menunjukkan tidak mutasi (*wild type*) dan band 526bp dan 146bp menunjukkan adanya mutasi. Dan pada 300bp terdapat *M. avium*.

Keterangan Gambar I:

- Lane a : 100bp DNA Ladder/Marker
- Lane b : hasil PCR *M. tuberculosis* Strain H37RV (kontrol positif tanpa restriksi enzim *BstEII*) : 672bp
- Lane c : hasil PCR-RFLP *M. tuberculosis* Strain H37RV (kontrol positif restriksi enzim *BstEII* / *wild type*) : 103bp, 146bp dan 423bp
- Lane A-E, G-K : hasil PCR-RFLP gen *pncA* *M. tuberculosis* (*wild type* , *M. avium*)
- Lane M (1) : hasil PCR RFLP gen *pncA* *M. tuberculosis* (mutasi: 146bp, 526bp, *wild type* 423bp dan *M. avium* : 300bp)

Keterangan Gambar II:

- Lane a : 100bp DNA Ladder/Marker
- Lane b : hasil PCR *M. tuberculosis* Strain H37RV (kontrol positif tanpa restriksi enzim *BstEII*) : 672bp
- Lane c : hasil PCR-RFLP *M. tuberculosis* Strain H37RV (kontrol positif restriksi enzim *BstEII* / *wild type*) : 103bp, 146bp dan 423bp
- Lane M-P, S-U : hasil PCR-RFLP gen *pncA* *M. tuberculosis* (*wild type* , *M. avium*)
- Lane Q (2) : hasil PCR RFLP gen *pncA* *M. tuberculosis* (mutasi: 146bp, 526bp, *wild type* 423bp)
- Lane R (3) : hasil PCR RFLP gen *pncA* *M. tuberculosis* (mutasi: 146bp, 526bp, *wild type* 103bp dan *M. avium* : 300bp)

Tabel 2. Kadar serum trasaminase dan asam urat pada TB RO dengan mutasi gen *pncA*

Kadar serum	Mean ± SD		
	Baseline	4 minggu	8 minggu
SGOT	17,3±5,6	24,7 ± 8,1	33,8 ± 16,4
SGPT	18,9 ± 12,7	21,3 ±13,1	20,9 ± 11,9
Asam urat	7,4 ± 2,36	11 ± 3,04	10,8 ± 4,05

Tabel 3. Hubungan serum Trasaminase dan serum Asam Urat terhadap waktu pemberian PZA pada pasien TB RO dengan mutasi gen *pncA*

Kadar serum	P value		
	Baseline dan 4 minggu	Baseline dan 8 minggu	4 minggu dan 8 minggu
SGOT	0,007	0,023	0,149
SGPT	0,058	0,583	0,940
Asam urat	0,011	0,086	0,906

Uji T-Test

PEMBAHASAN

Pada tahun 2013 WHO melaporkan rasio kejadian TB pada laki-laki 0,9-1,5 kali lebih banyak dibanding perempuan tergantung jenis lesi dan kepositifan hasil pulasan sputum basil tahan asam (BTA). Penelitian kami mendapatkan 80% sampel adalah laki-laki. Beberapa penelitian telah dilakukan sebelumnya di RS. Hasan Sadikin Bandung mendapatkan laki-laki sebanyak 56,8%, RSUD Arifin Riau 72,5% dan RSUP H. Adam Malik Medan 69,42% dan 71,43%.¹⁸⁻²¹ Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan Jen Suo dkk di Taiwan dalam Nofizar dkk yang menunjukkan bahwa perempuan lebih banyak menderita TB RO dibandingkan dengan laki-laki (64% Vs 36%). Penelitian di Bangladesh menunjukkan jenis kelamin mempunyai hubungan yang tidak bermakna dengan kasus TB RO dan jenis kelamin bukan merupakan faktor risiko terhadap kasus pasien TB RO.^{12,13}

Hasil penelitian ini menunjukkan mutasi gen *pncA* ditemukan pada 36% sampel. Berbagai penelitian membuktikan hubungan mutasi gen *pncA* pada *M. tuberculosis* dengan resistensi PZA yang dilakukan dengan metode *sequensing*. Perubahan asam amino yang didapat berupa *delesi*, *subsitusi* dan *insersi*, tetapi dalam penelitian ini tidak dilakukan *sequensing* sehingga urutan perubahan asam amino akibat mutasi tidak dapat diketahui.^{5,10,15} Penelitian lain mendapatkan mutasi gen *pncA* pada *M. tuberculosis*

ditemukan sebesar 53-87,5%, dan secara molekuler terbukti berhubungan dengan resistensi PZA pada pasien TB. Jumlah sampel, jenis sampel dan waktu yang dibutuhkan dalam pengumpulan sampel mempengaruhi hasil persentase mutasi gen *pncA*.^{10,17,26}

Stoffel dkk menggunakan sampel TB RO yang telah dikumpulkan selama 14 tahun di Belgia dengan jumlah sampel 138 sampel berupa isolat DNA dari *M. tuberculosis* yang telah dibiakkan dalam media kultur. Penelitian tersebut memiliki data keberagaman demografi yang sangat lengkap. Penelitian tersebut dilakukan dengan metode *sequencing* sehingga didapat cluster berdasarkan genotipe serta jenis family dari Strain *M. tuberculosis* yang mengalami mutasi. Penelitian ini membuktikan terdapatnya mutasi spontan gen *pncA* pada isolat *M. tuberculosis* pasien TB RO. Hasil penelitian tersebut menunjukkan 43% sampel resisten terhadap PZA, dengan mutasi terbanyak pada gen *pncA* 98,3%.¹⁷

Dalam penelitian ini tidak dilakukan metode kultur terhadap sampel yang dikumpulkan sehingga mempengaruhi jumlah konsentrasi DNA yang dipakai. Penggunaan sampel dari isolat yang telah dibiakkan terlebih dahulu memberikan hasil yang jauh lebih bagus dan konsentrasinya juga tinggi, sedangkan sampel yang berasal dari hasil isolasi langsung dari sputum hasil konsentrasi DNA diperoleh sangat sedikit.¹⁶ Target mutasi gen yang ingin dilihat tidak ditentukan dalam penelitian ini karena target mutasi gen bukan merupakan hal yang *essensial* dalam menentukan mutasi gen *pncA*. Mutasi gen *pncA* hanya merusak aktivitas enzimatis dari *M. tuberculosis* sehingga penelitian-penelitian mengenai mutasi gen *pncA* hanya melihat perubahan asam amino dari *M. tuberculosis*. Perubahan asam amino yang ditemukan dapat berupa susunan asam amino yang tidak lengkap atau pemotongan (SNP) pada residu asam amino gen tersebut.^{16,17}

Penelitian ini juga mendapati beberapa sampel mengalami infeksi *M. avium* (*non tuberculous Mycobacterium*/NTM). Scorpio dkk seperti dikutip dalam Muthuraj dkk mendapatkan *M. avium* sebagai jenis NTM yang sering ditemukan pada pasien TB RO. Mandell membuktikan bahwa NTM dapat ditemukan

pada sampel pasien TB RO. Proses dan metode isolasi DNA *M. tuberculosis* sangat berpengaruh dan ikut berkontribusi terhadap hasil penelitian. *Non tuberculous Mycobacterium* (NTM) memiliki urutan asam amino yang sangat menyerupai *M. tuberculosis*, sehingga berpengaruh pada hasil proses isolasi DNA *M. tuberculosis*. Kemungkinan ditemukannya NTM didalam infeksi *M. tuberculosis* sulit dihindari karena transmisi NTM pada manusia bisa melalui konsumsi makanan, penggunaan air, dan kontak dengan binatang peliharaan.¹⁵

Dari hasil analisis pada penelitian ini didapatkan bahwa pemberian PZA memiliki hubungan yang bermakna dengan peningkatan serum SGOT pada pasien TB RO yang mengalami mutasi gen *pncA* jika dinilai dari *baseline* dan setelah mendapatkan obat PZA 4 minggu dan 8 minggu. Peningkatan serum SGOT tidak bermakna jika dibandingkan pada pasien yang mendapatkan PZA 4 minggu dan setelah 8 minggu. Terdapat peningkatan serum SGPT setelah pasien mendapatkan PZA selama 4 minggu dan 8 minggu yang secara statistik tidak terdapat hubungan yang bermakna antara peningkatan serum SGPT dengan mutasi gen *pncA*. Mekanisme PZA dalam menyebabkan toksisitas serta meningkatnya serum *transaminase* masih belum diketahui secara pasti, namun diduga berasal dari metabolit toksik yang menyebabkan jejas hepatoseluler. Berdasarkan uji yang dilakukan pada mencit diketahui bahwa PZA menghambat CYP450.⁹

Penelitian lain mendapatkan pemberian PZA selama 6 hingga 12 minggu dapat meningkatkan serum *transaminase* dan berhubungan secara bermakna dengan kejadian hepatotoksik pada pasien TB. Hepatotoksitas diketahui dapat terjadi pada seseorang jika adanya peningkatan serum *transaminase* 3 kali lebih tinggi dari dari serum normalnya.^{11,23,26} Penelitian di Cina membuktikan terdapat gangguan fungsi hati berat berkaitan dengan dosis pemberian PZA.^{9,23} Penelitian yang dilakukan di India mendapatkan data PZA dapat menyebabkan peningkatan serum *transaminase* sebanyak 16%.²⁴ Faktor-faktor yang mempengaruhi kejadian hepatotoksitas menurut Totsman adalah ras, usia, penggunaan alkohol, komorbid seperti

HIV, penyakit hepar, dan status asetilator obat. Mekanisme hepatotoksitas tidak diketahui secara pasti, dan dianggap sebagai reaksi idiosinkratik atau merupakan reaksi efek samping obat yang tidak berhubungan dengan sifat farmakologi obat.¹¹ Dalam penelitian ini semua kemungkinan faktor peranan yang mempengaruhi peningkatan serum *transaminase* telah diseleksi berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Dengan demikian peningkatan serum *transaminase* pada pasien TB RO diyakini hanya disebabkan oleh pemberian obat PZA.

Serum asam urat meningkat setelah pemberian PZA 4 minggu dan 8 minggu pada pasien TB RO yang mengalangi mutasi gen *pncA*. Hubungan yang bermakna secara statistik didapatkan ketika dibandingkan antara kadar serum asam urat *baseline* dengan kadar asam urat setelah 4 minggu. Hubungan yang tidak bermakna terdapat antara kadar asam urat *baseline* dan 8 minggu serta 4 minggu dan 8 minggu. Pyrazinamide dan etambutol memiliki kaitan dengan peningkatan serum asam urat. Meskipun sering asimtomatik *hiperuricemia* berat dapat menyebabkan gagal ginjal.^{27,28} Pyrazinamide dapat menghambat pengeluaran asam urat dengan cara menghambat sekresi tubular ginjal. Pemberian PZA dapat mengakibatkan hiperurisemia, arthralgia, atau gejala gout pada pasien yang diterapi dengan PZA dalam waktu yang lama.^{25,28,29} *Hiperuricemia* akibat pemberian PZA adalah peningkatan konsentrasi serum asam urat lebih besar dari nilai rata-rata tingkat tertingginya (6,5 mg/dL) yang diamati setelah 8 minggu terapi dengan PZA. Penelitian di India mendapatkan 73,7% pasien TB paru yang mendapatkan monoterapi PZA mengalami *hiperuricemia*. Penelitian lain terhadap pasien TB RO di Pakistan menunjukkan 6,25% mengalami kejadian *hiperuricemia*.²⁶

Hasil analisis statistik pada kedua kelompok gen *pncA* yaitu yang mengalami mutasi dan yang tidak mengalami mutasi memperlihatkan tidak ada hubungan yang bermakna antara gen *pncA* (mutasi dan tidak mutasi) dengan serum *transaminase* dan serum asam urat pada pasien TB RO jika dibandingkan berdasarkan waktu pemberian obat PZA *baseline* dengan setelah pemberian PZA (4 minggu dan 8 minggu). Hal ini membuktikan bahwa gen *pncA* tidak berpengaruh

terhadap peningkatan serum *transaminase* dan serum asam urat. Pemantauan terhadap peningkatan serum *transaminase* dan serum asam tetap diperlukan untuk mengurangi dampak efek samping penggunaan PZA pada pasien TB RO.

KESIMPULAN

Mutasi gen *pncA* pada penelitian ini sebanyak 36%. Mutasi gen *pncA* secara statistik bermakna terhadap peningkatan serum SGOT bila dibandingkan antara *baseline* dengan kadar serum setelah pemberian PZA 4 dan 8 minggu. Tidak terdapat hubungan yang bermakna antara mutasi gen *pncA* dengan kadar serum SGPT. Terdapat hubungan yang bermakna antara mutasi gen *pncA* dengan kadar serum asam urat *baseline* dan 4 minggu. Secara keseluruhan gen *pncA* (mutasi dan tidak mutasi) tidak memiliki hubungan yang bermakna dengan peningkatan kadar serum *transaminase* dan serum asam urat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Miquel Q, Andres HG, Robert HG, Cesar L. Structure-activity relationship in mutated pyrazinamidases from *Mycobacterium tuberculosis*. Bio-information. 2011;6:335-9.
2. Mitchison D, Davies G. The chemotherapy of tuberculosis: past, present and future. Int J Tuberc Lung Dis. 2012;16:724–32.
3. Ibrahim A, Matteo Z, Dennis F, Mario R, Lucicia D, Susan M, et al. Drug-resistant tuberculosis: time for visionary political leadership. Lancet Infect Dis. 2013;13:70030-6.
4. Mukh S, Sofiati P, Devita T. Deteksi mutasi gen *pncA* sebagai penyebab resistensi *Mycobacterium tuberculosis* terhadap pyrazinamid dengan teknik PCR-SSCP dan autografi. Prosiding PPI - PDIPTN 2010 Pustek Akselerator dan Proses Bahan - BATAN Yogyakarta. 2010.p.20-7.
5. Muthuraj M, Sridharan J, Nisha A, Manupriya S, Sambamurthy SP, Usharani M, et al. Molecular epidemiological study of pyrazinamide-resistance in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* from South India. Int J Sci. 2010;11:2670-80.

6. Shih TY, Pai CY, Yang P, Chang WL, Wang NC, Oliver YPH. A novel mechanism underlies the hepatotoxicity of pyrazinamide. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57:1685-90.
7. Zimic M, Patricia F, Gilman RH. Pyrazinoic acid efflux rate in *Mycobacterium tuberculosis* is a better proxy of pyrazinamide resistance. *Tuberculosis.* 2012;92:84–91.
8. Momekov G, Dilyan F, Yulian V, Georgi S, Plamen P. Pyrazinamide-pharmaceutical, biochemical and pharmacological properties and reappraisal of its role in the chemotherapy of tuberculosis. *Pharmacia.* 2014;61.
9. Fernandes JPS, Pavan FR, Leite CQF, Felli VMA. Synthesis and evaluation of pyrazinoic acid prodrug in *Mycobacterium tuberculosis*. *Saudi Pharm J.* 2013;12:005.
10. Ando H, Mitarai S, Kondo Y, Suetake T, Sekiguchi JI, Kato S, et al. Pyrazinamide resistance in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Japan. *Clin Microbiol Infect.* 2009;16:1164-8.
11. Tostmann A, Van den Boogaard J, Semvua H. Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity is uncommon in Tanzanian hospitalized pulmonary TB patients. *Trop Med Int Health.* 2010;15:268–72.
12. Nofizar D, Nawas A, Burhan E. Identifikasi faktor risiko tuberkulosis *multidrug resistant* (TB-MDR). *MKI.* 2012;60:537-45.
13. Rifat M, Milton AH, Hall J. Development of multidrug resistant tuberculosis in Bangladesh: A case-control study on risk factors. *Plos One.* 2014;9.
14. Rusdi NK. Gambaran efek samping kombinasi obat dan kesesuaian dosis pada pasien *multi drug resistance tuberculosis* (TB MDR) di Rumah Sakit Umum Pusat Persahabatan tahun 2010. *Farmasi sains.* 2011;1
15. Allahyar Torkaman MR, Sheikholislami FM, Farnia P, Shahhosseiny MH, Mozafari M, Masjedi MR, et al. Study of *pncA* gene using, PCR-RFLP and Allele-specific PCR methods in Distinguish of *Mycobacterium bovis* from *Mycobacterium tuberculosis*. *J Res Med Sci.* 2011;29:1-8.
16. Simons SO, van Ingen J, van der Laan T, Mulder A, Dekhuijzen PN, Boeree MJ, et al. Validation of *pncA* gene sequencing in combination with the mycobacterial growth indicator tube method to test susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to pyrazinamide. *J Clin Microbiol.* 2012;50(2):428-34.
17. Stoffels K, Mathys V, Fauville-Dufaux M, Wintjens R, Bifani P. Systematic analysis of pyrazinamide-resistant spontaneous mutants and clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:5186-93.
18. Sirait N, Parwati I, Dewi NS, Suraya N. Validitas metode polymerase chain reaction GeneXpert MTB/RIF pada bahan pemeriksaan sputum untuk mendiagnosis multidrug resistant tuberculosis. *MKB.* 2013;45:234-9.
19. Annisa F, Fauzi AZ, Fridayenti. Perbedaan kadar SGPT pada pasien tuberkulosis paru sebelum dan sesudah fase intensif di poliklinik paru RSUD Arifin Achmad Pekanbaru. *JOM FK.* 2015;2:11-9.
20. Susanty E, Amir Z, Siagian P, Yunita R, Eyaner P C. Uji Diagnostik GeneXpert MTB/RIF di Rumah Sakit Umum Pusat Haji Adam Malik Medan. *Jurnal Biosains.* 2015;1:19-30.
21. World Health Organization. Global tuberculosis report 2013. Geneva: World Health Organization; 2013.p.6-67.
22. World Health Organization. Rapid implementation of the Xpert MTB/ RIF diagnostic test: technical and operational “How-to” practical consideration. Geneva: World Health Organization; 2014.p.11-8.
23. Kwok CC, Chi CL, Wing Y, Tat YL, Cheuk MT. Hepatotoxicity of Pyrazinamide. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008;177:1391-6.
24. Ambreen K, Sharma R, Singh KP, Kumar S. Anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity. *Int J Adv Biotechnol Res.* 2014;15:423-37.
25. Kusnanto RP, Eko V, Pakiding H, Nurwidiasih D. Multidrug resistant tuberculosis (TB RO): Tinjauan epidemiologi dan faktor risiko efek samping obat anti tuberkulosis. *MKB.* 2014;4:46-52.
26. Singla R, Sharma K S, Mohan A. Evaluation of risk factors for antituberculosis treatment induced hepatotoxicity. *Indian J Med Res.* 2009;2010:81-6.
27. Mpagama SG, Ndusilo N, Stoup S, Kumburu H, Peloquin CA, Gratz J, et al. Plasma drug activity

- in patients on treatment for multidrug-resistant tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013; 58:782–8.
28. Sahota T, Pasqua OD. Feasibility of a fixed-dose regimen of pyrazinamide and its impact on systemic drug exposure and liver safety in patients with tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:5442-9.
29. Swaroop TVSS, Gowda S. Hepatotoxicity mechanisms and its biomarkers. *Int J Pharm Chem Sci.* 2012;1:2277-5005.