

**ANALISIS EKSPRESI GEN *NRAMP1* DAN *NOS2A* DAN
KADAR PROTEIN NRAMP 1 DAN NOS2A PADA
PENDERITA TB PARU AKTIF DAN TB LATEN**

**ANALYSIS OF *NRAMP1* AND *NOS2A* GENE EXPRESSION
AND NRAMP 1 AND NOS2A PROTEIN LEVELS IN
Patients with active pulmonary tuberculosis and latent
tuberculosis**

IRDA HANDAYANI

NIM: C013171028



PROGRAM PASACA SARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2020

**ANALISIS EKSPRESI GEN *NRAMP1* DAN *NOS2A* DAN
KADAR PROTEIN NRAMP 1 DAN NOS2A PADA
PENDERITA TB PARU AKTIF DAN TB LATEN**

Disertasi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai Gelar Doktor

Program Studi

Ilmu Kedokteran

Disusun dan diajukan oleh

IRDA HANDAYANI

PROGRAM PASACA SARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2020

DISERTASI

ANALISIS EKSPRESI GEN *NRAMP1* DAN *NOS 2 A* DAN KADAR PROTEIN *NRAMP1* DAN *NOS 2 A* PADA PENDERITA TB PARU AKTIF DAN TB LATEN

Disusun dan diajukan oleh

Irda Handayani
C013171028

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Disertasi
pada tanggal 3 Desember 2020
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui
Komisi Penasehat,


Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, Sp.Biok
Promotor


Dr. dr. Irawaty Djaharuddin, Sp.P(K)
Ko-Promotor


Prof. dr. Mansyur Arif, Ph.D, Sp.PK(K), MARS
Ko-Promotor

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran,

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin


dr. Agussalim Bukhari, M. Med, Ph.D, Sp.GK (K)


Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN

Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Makassar 90245 Telp.(0411)586010,(0411)586297
EMAIL : s3kedokteranunhas@gmail.com

SURAT PERNYATAAN NON PLAGIAT

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Irda Handayani
No Pokok : C013171028
Program Pendidikan : Doktor (S3)
Program Studi : Ilmu Kedokteran

Menyatakan secara benar, jujur dan bertanggung jawab bahwa disertasi yang berjudul "Analisis Ekspresi Gen NRAMP 1 dan NOS 2 A dan Kadar Protein NRAMP 1 dan NOS 2 A pada Penderita TB Paru Aktif dan TB Laten" adalah **asli dan bukan plagiat/bebas dari plagiat**.

Jika dikemudian hari ternyata disertasi ini sebagian/seluruhnya mengandung unsur plagiat maka disertasi dibatalkan dan bersedia menerima sanksi secara hukum dari Fakultas maupun Universitas. .

Demikian Surat Pernyataan ini dibuat tanpa tekanan siapapun.

Makassar, 23 Nopember 2020

Mahasiswa,



Irda Handayani

PRAKATA

Bismillahirrahmanirrahiim

Assalamu alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Petama-tama penulis ucapkan Alhamdulillah Rabbil Alamin atas kehadiran dan berkah rahmat dari Allah Subhanahu Wataala sehingga dapat menyelesaikan disertasi ini sebagai bagian dari proses pendidikan program doktoral Program Studi Ilmu Kedokteran dengan judul :” ANALISIS EKSPRESI GEN *NRAMP1* DAN *NOS2A* DAN KADAR PROTEIN NRAMP 1 DAN NOS2A PADA PENDERITA TB PARU AKTIF DAN TB LATEN “ .Salam dan sholawat untuk junjungan kita Nabi Muhammad Sallallahu Alaihi Wasallam beserta keluarga dan para sahabat serta pengikut –Nya hingga akhir zaman.

. Penyusunan disertasi ini tidak terlepas dari dukungan berbagai pihak baik moril maupun materil. Untuk itu penulis haturkan ucapan terima kasih yang sebesar besarnya secara khusus kepada Suami tercinta Muhammad Nasrum Massi beserta anak-anak kami tersayang : Ayu andini Wulandari, Nada Indira Ramadhani dan Aulia Puspita Dewi yang telah mendampingi dalam suka dan duka dengan kesabaran dan penuh pengertian, senantiasa memberikan dukungan, motivasi serta doa kepada penulis hingga dapat menyelesaikan proses pendidikan ini. Penghargaan dan terima kasih sebesar besarnya juga kami haturkan kepada Orang tua kami tercinta H. Ady.M Tawang, St.Kalijah (Alm),Hj.St.Saenab,Hj.Nursiah,dan Ibu mertua kami Hj.Tjanni Massi atas

doa dan dukungan moril untuk penulis hingga berhasil sampai ke tahap akhir pendidikan.. Ucapan terima kasih juga Penulis sampaikan kepada saudara saudara dan segenap keluarga besar dan handai tolan atas doa dan dukungan kepada penulis sehingga berhasil menyelesaikan pendidikan .

Dalam kesempatan ini penulis juga ingin menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada pihak-pihak yang telah membantu , memberikan bimbingan dan arahan serta motivasi kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan proses pendidikan sampai ke tahap akhir penyusunan dan penyelesaian disertasi ini, khususnya kepada :

1. Prof.Dr.Dwia Aries Tina Pulubuhu ,MA sebagai Rektor Universitas Hasanuddin, Prof dr.Budu,Ph.D,SPM,KVR,M.Med.Ed sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan Prof Dr.Andi Asadul Islam,Sp.BS(K) sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddi periode 2014-2018 atas izin dan kesempatan serta dukungan mengikuti program pendidikan doktoral.
2. Ketua Program Studi S3 Kedokteran Unhas dr.Agussalim Buchari ,M.Clin.Med,PhD,Sp.GK dan Prof.dr.Mochammad Hatta Ph.D,Sp.MK(K) sebagai Ketua Program Studi periode sebelumnya yang telah memberikan kesempatan , motivasi ,arahan dan saran kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan proses pendidikan

3. .Prof.dr.Rosdiana Natzir,Ph.D, Sp.Biok sebagai Promotor yang telah memberikan arahan dan bimbingan ,motivasi dan saran untuk perbaikan dalam penyusunan disertasi dan Dr.dr.Irawaty Djaharuddin,Sp.P(K) sebagai Co-Promotor dan Prof.dr.Mansyur Arif,Ph.D,Sp.PK(K),MARS sebagai Co-Promotor yang telah memberikan arahan dan bimbingan ,motivasi serta saran untuk perbaikan dalam penyusunan disertasi .
4. Prof.dr.Mochammad Hatta Ph.D,Sp. MK (K),Prof.Akhyar Ahmad,Ph.D, Dr.dr.Ilham Djaya Patellongi, M.Kes, Dr.Rosana Agus,Msc, Dr.dr.Yuyun Widaningsih,Sp.PK(K) sebagai Tim Penguji disertasi dan Prof.Dr.dr.Muhammad Amin,Sp.P(K) sebagai Penguji eksternal atas bimbingan ,arahan serta saran perbaikan dalam penyusunan disertasi .
5. Direktur RSUP.Dr.Wahidin Sudirohusodo Dr.dr.Khalid Saleh, Sp.PD,FINASIM,KKV,MARS atas ijin dan dukungan untuk mengikuti pendidikan dan Direktur RSPTN Universitas Hasanuddin dan Kepala Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat .atas dukungan dalam proses penelitian .
6. Ketua Departemen Patologi Klinik Dr.dr.Yuyun Widaningsih,Sp.PK(K) beserta seluruh dosen dan staf Departemen Patologi Klinik atas dukungan dan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan

7. Staf Laboratorium HUMRC RSPTN Universitas Hasanuddin : Handayani SSi,M.Kes dan teman teman Tim kolaborasi penelitian : dr.Najdah Hidayah, Subair,SSi,M.kes, Ns.Andi Tenri Ola,M.Kep, Dr.dr Muhammad Adnan ,Sp.PD (Alm) dan Syahruni Hidayatullah,SSi,M.Kes atas kerja sama, dukungan , motivasi dan saran selama proses penelitian dan penyelesaian disertasi

8. Staf Pogram Studi S3 Ilmu Kedokteran : Akmal, S.Sos,MAP, Abdul Muin, AMd, FT dan Pak Rachmad atas motivasi, bantuan dan dukungan dalam proses administrative pendidikan

9.Seluruh pasien dan keluarga serta sukarelawan yang secara Ikhlas tanpa

paksaan ikut berpartisipasi dan bekerja sama dalam penelitian

Seluruh pihak yang telah membantu dalam proses pendidikan hingga penyelesaian tugas akhir disertasi yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, dengan ketulusan hati penulis menyampaikan terima kasih. Semoga Allah Subhanahu Wataala membalas kebaikan Bapak/Ibu, Saudara/I sekalian .Amiin.Yaa Rabbal Alamin.

Penulis menyadari bahwa disertasi ini masih memiliki banyak kekurangan sehingga penulis sangat mengharapkan saran dalam penyempurnaanya.

Akhir kata, semoga disertasi ini dapat bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan dan aplikasi klinis dalam pencegahan dan penanggulangan penyakit Tuberkulosis di Indonesia

Aamiin yaa Rabbal Alaminin.

Makassar, 5 Desember 2020

IRDA HANDAYANI

ABSTRAK

IRDA HANDAYANI. Analisis Ekspresi Gen *NRAMP1* dan *NOS2A* serta Kadar Protein NRAMP 1 dan NOS2A pada Penderita TB Paru Aktif Dan TB Laten (dibimbing oleh Rosdiana Natzir, Mansyur Arief, dan Irawaty Djaharuddin).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ekspresi gen *NRAMP1* dan *NOS2A* dan kadar protein NRAMP 1 dan NOS2 A yang terkait dengan kerentanan terhadap infeksi TB. Penelitian ini dilakukan pada 30 penderita TB paru aktif, 27 orang TB laten dan 33 orang sehat sebagai control. Ekspresi gen diukur dengan metode *realtime*-PCR- dan Kadar protein NRAMP1 dan NOS2A diukur dengan metode ELISA.

Hasil pengukuran Ekspresi mRNA gen *NRAMP 1* dan *NOS 2 A* didapatkan lebih rendah pada penderita TB paru aktif dibandingkan dengan TB laten. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rerata hasil pengukuran ekspresi mRNA gen *NRAMP 1* dan ekspresi mRNA gen *NOS2 A* pada TB aktif berbeda bermakna dibandingkan dengan orang sehat $p < 0.05$ ($p = 0.025$ dan $p = 0.038$). Nilai rerata kadar protein NRAMP1 pada kelompok TB aktif sebesar 196,4 ng/ml, pada kelompok TB laten sebesar 199,3 ng/ml dan pada kelompok orang sehat adalah 224,7 ng/ml namun perbedaan ini tidak bermakna ($p = 0.96$). Nilai rerata kadar protein NOS2A pada kelompok TB aktif sebesar 4,4 ng/ml, pada kelompok TB laten sebesar 4,2 ng/ml dan pada kelompok orang sehat adalah 5,3 ng/ml, namun perbedaan ini tidak bermakna ($p = 0.20$). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa ekspresi gen *NRAMP1* dan *NOS2A* lebih rendah pada penderita TB paru aktif dari pada TB Laten, dan kadar protein NRAMP 1 lebih rendah pada penderita TB paru aktif dari pada TB Laten sedangkan kadar protein NOS2A lebih tinggi pada penderita TB paru aktif dari pada TB Laten namun tidak ditemukan perbedaan yang bermakna diantara kelompok TB paru aktif dan TB laten.

Kata kunci: ekspresi gen, kadar protein, NRAMP1, NOS2A, TB paru aktif, TB laten



ABSTRACT

IRDA HANDAYANI. Analysis of *NRAMP1* and *NOS2A* Gene Expression and NRAMP 1 and NOS2A Protein Levels In Patients With Active Pulmonary Tuberculosis and Latent Tuberculosis (Supervised by Rosdiana Natzir, Mansyur Arif, And Irawaty Djaharuddin)

This study aims was to determine *NRAMP1* and *NOS2A* gene expression and NRAMP1 and NOS2A protein levels associated with susceptibility to tuberculosis infection. This study was conducted on 30 patients with active pulmonary tuberculosis, 27 people with latent tuberculosis, and 33 healthy people as controls. Gene expression was measured by realtime PCR method and NRAMP1 and NOS2A protein levels were measured by the ELISA method.

The results of measurements of mRNA *NRAMP1* and Mrna *NOS2A* gene expression were found to be lower in patients with active pulmonary tuberculosis compared to latent tuberculosis. The results of this study indicated that the mean of the measurement results of mRNA *NRAMP1* gene expression and mRNA *NOS2A* gene expression in active tuberculosis was significantly different compared to healthy people ($p = 0.025$) and ($p=0.038$) respectively. The mean of NRAMP1 protein levels in the active tuberculosis group was 196.4 ng / ml, in the latent tuberculosis group was 199.3 ng / ml and in the healthy group was 224.7 ng / m. The results of this study indicated that the mean of NRAMP1 protein levels were found to be lower in patients with active pulmonary tuberculosis compared to latent tuberculosis but this difference was not significant ($p = 0.96$). The mean of NOS2A protein levels in the active tuberculosis group was 4.4 ng / ml, in the latent tuberculosis group was 4.2 ng / ml and in the healthy group was 5.3 ng / ml. The results of this study indicated that the mean of NOS2A protein levels were found to be higher in patients with active pulmonary tuberculosis compared to latent tuberculosis but this difference was not significant ($p = 0.22$). However, the mRNA *NRAMP1* and mRNA *NOS2A* gene expression were found to be lower in patients with active pulmonary tuberculosis compared to latent tuberculosis and the NRAMP1 protein levels were found to be lower in patients with active pulmonary tuberculosis compared to latent tuberculosis while the NOS2A protein levels were found to be higher in patients with active pulmonary tuberculosis compared to latent tuberculosis but there were no significant differences between the active pulmonary tuberculosis and latent tuberculosis groups.

Key word : gene expression, protein level, *NRAMP1*, *NOS2A*, active pulmonary

tuberculosis, latent tuberculosis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL

I

HALAMAN PENGESAHAN

II

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN

iii

PRAKATA

iv

ABSTRAK BAHASA INDONESIA

v

ABSTRAK BAHASA INGGRIS

vi

DAFTAR ISI

vii

i

DAFTAR TABLE

viii

DAFTAR GAMBAR

ix

DAFTAR LAMPIRAN

x

DAFTAR SINGKATAN

xi

BAB..1.PENDAHULUAN

A.Latar belakang.

1

B.Rumusan Masalah.

9

C.Tujuan Penelitian

9

1. Tujuan Umum

9

2. Tujuan .Khusus

9

D.Manfaat Penelitian

10

II. TINJAUAN PUSTAKA

Tuberkulosis

.12

A. Definisi

12

B. Etiologi

12

C. Faktor Risiko

14

D. .Patogenesis

18

E. Diagnosis

.28

F. Klasifikasi

35

NRAMP 1

36

NOS2 A

46

KERANGKA PENELITIAN

Kerangka Teori.

55

Krangka Konsep

. 56.

III.METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

57

Tempat dan Waktu Penelitian.

57

Cara Kerja .

58

Populasi Penelitian

70

Sampel

71

Perkiraan Besar Sampel

72

Definisi Operasional

74

Metode Analisis

75

Izin Subjek Penelitian.

77

Alur Penelitian

78

IV.HASIL dan PEMBAHASAN

a.Hasil penelitian

79

b.Pembahasan.

89

V.SIMPULAN dan SARAN .

103

Simpulan

103

Saran

103

Daftar pustaka.

104

Lampiran

114

DAFTAR TABEL

1.Tabel	1.	Faktor	risiko	TB	laten	
16						
2.Tabel	2.	Karakteristik	subjek	penelitian		
80						
3.Tabel	3.	Rerata	kadar	protein	NRAMP	1
83						
4.Tabel	4.	Rerata	kadar	protein	NOS2A	
85						
5.Tabel	5.	Nilai	kemaknaan	ekspresi	gen	<i>NRAMP</i> 1
86						
6.Tabel	6.	Nilai	kemaknaan	ekspresi	gen	NOS2A
88						

DAFTAR GRAFIK

1.Grafik	1.	Rerata	kadar	protein	NRAMP	1
82						
2.Grafik	2.	Rerata	kadar	protein	NOS2	A
84						
3.Grafik	3,	Hasil	pengukuran	ekspresi	gen <i>NRAMP</i>	1
86						
4.Grafik	4.	Hasil	pengukuran	ekspresi	gen <i>NOS2</i>	A
87						

DAFTAR GAMBAR

1.Gambar 13	1. <i>Mycobacterium</i> <i>tuberculosis</i>
2.Gambar 26	2.Respon imun alamiah
3.Gambar 27	3.Respon imun adaptif

DAFTAR LAMPIRAN

1. Lampiran 1. Data dasar subjek penelitian
114
- 2 .Lampiran 2. Kuesioner
117
- 3 .Lampiran 3. Hasil pemeriksaan kadar protein NRAMP1
122
dan NOS2A serta analisa statistik
- 4 .Lampiran 4. Hasil pengukuran ekspresi gen *NRAMP1* dan
133

NOS2 A serta analisa statistik

5	.Lampiran	5.	Primer	gen	<i>NRAMP1</i>	dan	<i>NOS2 A</i>	145
6.	Lampiran	6.	Housekeeping	gene				146
7	.Lampiran	7.	posisi primer	pada	sequens	gen	<i>NRAMP1</i>	152
8.	Lampiran	8.	Posisi primer	pada	sequens	gen	<i>NOS2 A</i>	154
9	.Lampiran	9.	Etik	penelitian				156
10.	Lampiran	10.	Curriculum	Vitae.				157

DAFTAR SINGKATAN

AIDS	:Acquired Immune Deficiency Syndrome
AP	: Posterior Anterior

b TB	: bovinTB
BCG	: <i>Bacillus Calmette Guerin</i>
BTA	: Basil Tahan Asam
CD	: Cluster Differentiation
DC	: Dendritic cell
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
DOTS	: Directly Observed Treatment Short-course
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
ESAT-6	: Early secreted antigenic target kDa 6
HIV	: Human Immunodefisiensi Virus
ICT	: Immuno-chromatografi
IFN- γ	: Interferon Gamma
IGRA	: Interferon Gamma Release Assays
IL	: Interleukin
<i>i</i> NOS	; Inducible Nitric Oxide Synthase
KEMENKES	; Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
LAM	: Lipoarabinomannan
Limfosit Th	: Limfosit T Helper
LPS	: <i>lypopolysacharide</i>
LTBI	: Latent Tuberculosis Infection
M.tb	: <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
MDR	: Multi drug resistant
MGIT	: Mycobacterium Growth Indicator Tube
MHC	: Major Histocompatibility Complex
Mrna	: Messenger <i>ribonucleic acid</i>

NF-kB	: Nuclear Factor kappa B
NIK	: NF-kB Inducing Kinase
NK	: Natural Killer
NO	; Nitric oxide
NOS2A	; NITRIC Oxide Synthase 2 A
<i>NRAMP 1</i>	; Natural Resistance Associated Macrophage Protein
OAT	: Obat Anti Tuberkulosis
OAT	: Obat Anti Tuberculosis
PDPI	: Persatuan Dokter Paru Indonesia
PPD	: Purified protein derivate
QFT-GIT	: QuantiFERON-TB Gold In-Tube assay
RT-PCR	: Real Time Polymerase chain Reaction
<i>SLC11A1</i>	; Solute Carrier Family 11
TB	; Tuberkulosis
TCM	: Tes Cepat Molekular
TLR	: Toll like Reseptor
TNF- α	: Tumor necrosis factor alpha
TST	: Tuberculin skin test
VDR	: Vitamin D receptor
WHO	: World Health Organization

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit infeksi menular yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (M. tb) yang menyerang paru maupun ekstraparu. *Mycobacterium tuberculosis* (M. tb)

pertama kali diperkenalkan pada tahun 1882 oleh Robert Koch. Presentasi Robert Koch dengan mengenalkan *Mycobacterium tuberculosis* untuk pertama kalinya mendapatkan penghargaan nobel di bidang kesehatan. *Mycobacterium tuberculosis* dikenal juga dengan istilah basil Koch. (World Health Organization, 2018)

Pada tahun 1993, *World Health Organization* (WHO) telah mencanangkan tuberkulosis sebagai *global emergency*. (Kesehatan Republik Indonesia, 2011; World Health Organization, 2018)

Penyakit ini menyerang semua kelompok umur, sekitar 75% pasien TB adalah kelompok usia produktif secara ekonomis (15-50 tahun). Diperkirakan seorang pasien TB dewasa, akan kehilangan rata-rata waktu kerjanya 3-4 bulan. Selain merugikan secara ekonomis, TB juga memberikan dampak buruk lainnya secara sosial. Penyebab utama meningkatnya beban masalah TB antara lain kemiskinan pada berbagai kelompok masyarakat, kegagalan program TB, perubahan demografik dan perubahan struktur umur kependudukan, serta dampak pandemik infeksi HIV. (World Health Organization, 2018)

Data Kemenkes tahun 2018 , melaporkan bahwa Indonesia menduduki peringkat ketiga kasus TB tertinggi di dunia setelah India dan China. Estimasi jumlah kasus ada 842.000 dengan jumlah kasus TB yang tercatat ada 446.732 kasus. Pasien TB dan HIV dilaporkan sebanyak 7729 kasus (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2018)

Infeksi TB terjadi karena inhalasi *droplet nuclei* yang mengandung kuman tuberkulosis. Setelah terpapar kuman TB ada empat keadaan yang

bisa terjadi yaitu pertama tidak terjadi infeksi (ditandai dengan tes kulit tuberkulin yang negatif), kedua terjadi infeksi kemudian menjadi TB yang aktif (TB primer), ketiga menjadi TB laten dimana mekanisme imun mencegah progresivitas penyakit menjadi TB aktif dan keempat menjadi TB laten tetapi kemudian terjadi reaktivasi dan berkembang menjadi TB aktif dalam beberapa bulan sampai beberapa tahun kemudian. Infeksi TB laten didefinisikan sebagai kondisi seseorang yang terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis* tetapi saat ini orang tersebut tidak sakit, tidak mempunyai gejala/ *asymptomatic* dan gambaran foto toraks normal. Diperkirakan sekitar 5% - 10% dari orang dengan infeksi laten, akan terjadi reaktivasi dan menjadi TB aktif. (Martin and Hasibuan, 2010)

Perkembangan respon kekebalan tubuh yang diperantai oleh sel terhadap *M. tb*, 6 – 8 minggu setelah infeksi awal dapat mengendalikan penyebaran *M. TB* dalam granuloma .Hal ini diwujudkan dengan hasil test Tuberculin kulit (TST) yang positif atau interferon- γ melalui pemeriksaan (IGRA. Sejauh mana sebenarnya pengertian dari infeksi laten kurang dipahami. Demikian pula, masih sedikit yang diketahui tentang transisi dari kondisi ini ke tuberculosis .

Infeksi tuberculosis laten (ITBL) didefinisikan sebagai kondisi atau tahap respon imun persisten terhadap antigen *Mycobacterium tuberculosis* tanpa manifestasi klinis disertai foto thorax normal, dan pemeriksaan bakteriologis negatif. Istilah TB laten diciptakan Clemens von Pirquet yang mengembangkan uji tuberkulin tahun 1907. Istilah TB laten ini kemudian digunakan untuk anak-anak yang tidak menampakkan gejala

TB tetapi memiliki respon positif terhadap uji tuberkulin hingga digunakan secara luas sekarang ini. (WHO,2015,WHO 2018)

Populasi dunia yang terinfeksi tuberkulosis laten diperkirakan sekitar 30%. Prevalensi ITBL di Amerika Serikat diperkirakan di atas 13 juta orang dan sekitar 650.000-1.300.000 orang yang berkembang menjadi TB aktif. Prevalensi ini diperkirakan lebih tinggi pada negara berkembang, karena prevalensi TB aktif yang lebih tinggi dan kurangnya fasilitas pemeriksaan yang menunjang. Orang yang terinfeksi tuberkulosis laten umumnya tidak menunjukkan gejala penyakit TB dan tidak infeksius, namun mereka berisiko untuk berkembang menjadi penyakit TB aktif dan infeksius. Risiko reaktivasi TB pada pasien yang terdokumentasi sebagai infeksi tuberkulosis laten sekitar 5-10% dan umumnya berkembang menjadi penyakit TB dalam 5 tahun sejak infeksi pertama. Risiko berkembangnya infeksi TB laten menjadi penyakit TB tergantung pada beberapa faktor, terutama status imunologi host (WHO, 2015,WHO, 2018)

Beberapa studi kandidat gen telah memberikan bukti bahwa genetik dari *host* berperan terhadap kerentanan penyakit tuberculosi atau dengan kata lain faktor genetik ikut mempengaruhi respon imunitas tubuh dalam melawan kuman M.tb. Interaksi antara M.tb dan makrofag adalah langkah penting dalam patogenesis infeksi awal. Makrofag adalah sel efektor kunci dalam mengaktifkan respon imun bawaan dan memulai respon *innate* imun. Kekebalan bawaan kemungkinan menyediakan pertahanan awal yang penting terhadap M.tb dan bisa menjadi penentu penting dari hasil klinis akhir. Respon bawaan dipicu oleh interaksi antara struktur permukaan pada M.tb dan reseptor pengenalan pola pada

makrofag, aktivasi Toll-like receptor-2. Induksi NF- κ B mengarah pada transkripsi berbagai gen respon imun, termasuk sitokin pro-inflamasi dan kemokin seperti tumor necrosis factor- α , interleukin (IL) -8, dan IL-6. Faktor-faktor ini pada gilirannya mengaktifkan komponen respon imun bawaan, merekrut sel-sel inflamasi ke tempat-tempat awal infeksi. (Jennifer *et al.*, 2010).

Variasi pada gen manusia merupakan salah satu modulator penting terhadap resiko mengidap suatu penyakit. Namun identitas dari varian genetic yang mempengaruhi resiko penyakit belum banyak diketahui. Hambatan utama dalam mengidentifikasi gen manusia karena kompleksitas gen yang mempengaruhi fenotip, dan *susceptibility* terhadap penyakit infeksius. Kompleksitas gen dikarakterisasi oleh heterogenitas genetik dan filogenetik yang mempengaruhi ekspresi gen (Lander dan Shorck, 1994).

Untuk mengidentifikasi *susceptibility gene*, maka perlu diketahui pola genetik yang tepat sehingga studi ini menjadi dasar untuk identifikasi varian penyakit. Salah satu kandidat gen yang berperan dalam regulasi resistensi dan *Susceptibility* adalah gen *NRAMP1* atau dikenal juga dengan nama *Solute Carrier Family 11 (SLC11A1)*.

Solute Carrier Family 11 (SLC11A1). yang sebelumnya dikenal sebagai *Natural Resistance Associated Macrophage Protein (NRAMP-1)* merupakan transporter ion divalent yang kerjanya mengatur dan diatur oleh konsentrasi ion intraseluler, terutama besi (Fe^{2+}). Protein ini mempunyai peran untuk meregulasi pengaktifan makrofag dan berkontribusi terhadap pengendalian infeksi bakteri

intraseluler. Mekanisme yang mungkin terjadi adalah setelah proses fagositosis, *NRAMP1* akan ditargetkan ke membran fagosom yang mengandung mikroba untuk kemudian memediasi transport besi dan ion lainnya. Besi merupakan unsur yang esensial bagi fungsi biologis baik untuk pertumbuhan bakteri maupun pada pertahanan imun inang, dan dengan adanya *NRAMP1* ketersediaan besi dan ion logam esensial pada fagosom dapat diturunkan sehingga memungkinkan untuk pembatasan pertumbuhan bakteri. (Muangsengbut, et al, 2017)

Gen *natural resistance associated macrophage protein (NRAMP-1)* berperan dalam memodulasi respon imun terhadap serangan kuman patogen. Gen ini merupakan salah satu gen yang mempengaruhi pengaktifan kerja makrofag yakni dapat menyandi protein integral yang dilokalisasi pada endosomal dan kompartemen lisosomal makrofag. Selain itu gen ini dapat pula menyandi suatu divalent kation pengangkut protein yang dilibatkan dalam kontrol replikasi intrafagosomal pada patogen intraseluler dengan mengubah lingkungan fagosomal (Dustan, et al., 2001).

Penelitian yang dilakukan oleh Ye, dan Zhu tentang korelasi antara *NRAMP1 gene polymorphism* dengan kepekaan terhadap penyakit TB pada populasi Tibet menunjukkan bahwa inbalans linkage, mengindikasikan TGTG-del allele dapat menjadi suatu gen yang rentan terhadap tuberculosis pada populasi Tibet yang membawa *TGTG-del Genotype* adalah lebih rentan terhadap penyakit tuberculosis.

Penelitian oleh Liew, 2002, yang berjudul “ *Variation in the NRAMP1 Gene and Susceptibility of Tuberculosis in Taiwanese* “. menggunakan sampel penelitian sebanyak 49 subjek TB dan 48 kontrol sehat.. Meskipun gen *NRAMP1* dikaitkan dengan TB paru, Sarkoidosis, dan infeksi HIV, Penelitian ini gagal mendeteksi hubungan yang signifikan secara statistik antara varian *NRAMP1* dan status penyakit TB..

Mekanisme molekuler yang tepat dari aktivasi makrofag yang membatasi *M.tb* belum ditentukan. Satu dari kemungkinan mediator kontrol mikobakteri adalah ekspresi kadar nitrit oksida tinggi setelah induksi dari *inducible nitric oxide synthase (iNOS) gen (NOS2)*. Molekul ini diperkirakan bertindak bersama dengan radikal superoksida dalam asam phagosomes untuk menghasilkan produk-produk beracun yang mampu membatasi kelangsungan hidup dan pertumbuhan *M. tb* (Andrea M., 2000).

Penelitian baru baru ini berfokus pada gen yang terlibat dalam respon makrofag terhadap *M.tb* untuk lebih memahami mekanisme peningkatan kerentanan terhadap TB . *Nitric Oxide (NO)* sangat penting untuk fungsi makrofag dan pembentukan granuloma dalam respon imun terhadap *M.tb*. *NOS* diproduksi dengan isoform dari tiga gen divergen *Inducible Nitric oxide Synthase (iNOS)* diproduksi oleh *NOS 2 A*, *Neuronal nitric oxide synthase (nNOS)* diproduksi oleh *NOS 1* dan *endothelial NOS (eNOS)* diproduksi oleh *NOS 3*..Diantara gen gen ini ,*NOS2 A* menjadi kandidat utama untuk kerentanan atau resistensi terhadap TB (Velez, et al, 2009)..

Nitric Oxide Synthase (NOS) dikodekan oleh gen polimorfik yang dikenal sebagai *NOS2A* terletak pada kromosom 17, pada lokus 17q11.2--q12 dengan panjang basa dimulai 27756766 bp hingga 27800529 bp. *Polimorphic pentanucleotida (CCTTT)_n* di wilayah promotor gen *NOS2A*, secara fungsional berperan penting dalam pengaturan transkripsi *NOS2A* (Gomez, et al, 2007) dan dianggap sebagai salah satu kandidat utama untuk kerentanan atau resistensi genetik pada berbagai penyakit termasuk tuberkulosis (Jena, et al, 2014).

Beberapa Studi genetik memberikan suatu makna potensi pengujian hubungan antara produksi NO dan *outcome* penyakit. *NOS 2 A CCTTT* Individual allele berhubungan dengan beberapa penyakit inflamasi, seperti retinopati diabetik,, demensia, atopik dan SLE pada orang Amerika Afrika.

Kuo, et al telah memperlihatkan juga bahwa makrofag alveolar pada penderita TB, NO meningkat dibandingkan dengan kontrol sehat. Selain itu NO berperan dalam autoregulatory pada amplifikasi sintesis TNF α dan IL-1 β .

Wong et al telah menunjukkan bahwa peningkatan Ekskalasi NO pada pasien TB adalah karena up-regulation NOS pada makrofag alveolar . Sebagai tambahan, jumlah NO yang terekskalasi tidak berhubungan dengan kapasitas mikobakterisidal , tetapi juga dapat berperan dalam pembentukan jaringan granuloma protektif.. Kesimpulannya ,bahwa gen *NOS2A* mempengaruhi kepekaan/ resistensi untuk perkembangan TB pada populasi Columbia bagian utara-barat

B. Rumusan Masalah:

1. Apakah ada perbedaan ekspresi gen *NRAMP1* dan *NOS2 A* pada penderita TB Paru aktif dan TB laten?
2. Apakah ada perbedaan kadar protein *NRAMP1* dan *NOS 2 A* pada penderita TB Paru aktif dan TB laten?
3. Apakah ada korelasi antara ekspresi gen *NRAMP1* dengan kejadian TB aktif dan laten ?
4. Apakah ada korelasi antara ekspresi gen *NOS 2 A* dengan kejadian TB aktif dan laten ?

C. Tujuan Penelitian**1. Tujuan Umum**

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis ekspresi gen *NRAMP1* dan *NOS 2A* dan kadar protein *NRAMP1* dan *NOS2A* pada penderita TB paru aktif dan laten

2. Tujuan Khusus

- a. Menganalisis ekspresi gen *NRAMP1* dan *NOS2A* pada penderita TB paru aktif

- b. Menganalisis ekspresi gen *NRAMP1* dan *NOS2A* pada penderita TB Laten
- c. Membandingkan ekspresi gen *NRAMP1* dan *NOS 2A* pada penderita TB paru aktif dan TB laten
- d. Menganalisis kadar protein *NRAMP1* dan *NOS 2 A* pada penderita TB paru aktif
- e. Menganalisis kadar protein *NRAMP1* dan *NOS 2 A* pada penderita TB laten
- f. Membandingkan rasio kadar protein *NRAMP 1* dan *NOS2 A* pada penderita TB Paru aktif dan TB laten
- g. Menganalisis korelasi antara ekspresi gen *NRAMP1* dan *NOS2 A* pada penderita TB Paru aktif dan TB laten.

D.Manfaat Penelitian

1. Bidang akademik

Memberikan informasi tentang ekspresi gen *NRAMP1* dan *NOS2 A* dan kadar protein *NRAMP1* dan *NOS2 A* pada penderita TB Paru aktif dan TB Laten.

2. Bidang Klinik

1. Memberikan informasi ilmiah tentang ekspresi gen *NRAMP1* dan *NOS 2 A* dan kadar protein *NRAMP1* dan *NOS 2 A* pada penderita TB Paru aktif dan TB laten,

2. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai alternatif pemeriksaan untuk deteksi TB laten
3. Sebagai acuan untuk penelitian lebih lanjut mengenai *Host susceptibility gene* lainnya pada penderita TB

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

TUBERKULOSIS

A. DEFINISI

Tuberkulosis merupakan penyakit infeksi kronis yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* (M.tb). Penyakit ini dapat ditularkan melalui udara (*droplet nuclei*) saat penderita TB batuk dan percikan ludah yang mengandung Mtb terhirup orang lain saat bernapas. Apabila penderita batuk, bersin atau berbicara saat berhadapan dengan orang lain, Mtb dapat tersembur dan terhisap ke dalam paru orang sehat. Basil Mtb masuk ke dalam tubuh manusia melalui saluran pernapasan dan bisa menyebar ke bagian tubuh lain melalui peredaran darah, pembuluh limfe, atau langsung ke organ terdekatnya. Masa inkubasi antara 3 hingga 6 bulan (Widoyono, 2008).

Tuberkulosis terdiri atas TB paru dan TB ekstraparu. Tuberkulosis paru menyerang jaringan paru, tidak termasuk pleura..Tuberkulosis ekstra paru adalah TB yang menyerang organ tubuh selain paru, misalnya pleura, kelenjar getah bening, meninges, perikardium, tulang, persendian, kulit, usus, ginjal, saluran kencing, alat kelamin dan lain-lain. (PDPI, 2011).

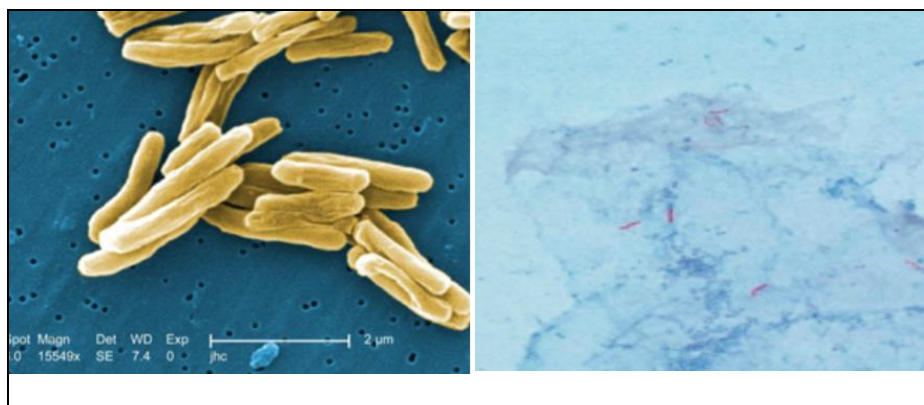
B. ETIOLOGI

Tuberkulosis adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dengan taksonomi sebagai berikut:

Kingdom : *Bacteria*
Phylum : *Actinobacteria*
Ordo : *Actinomycetales*

Subordo : *Corynebacteriae*
 Family : *Mycobacteriaceae*
 Genus : *Mycobacterium*
 Spesies : *Mycobacterium tuberculosis*

Mycobacterium tuberculosis (M. tb) berbentuk basil atau batang ramping lurus, sedikit melengkung, tidak berspora dan tidak berkapsul dengan ukuran panjang 1 - 4 μm dan lebar 0,3 - 0,6 μm . Bakteri ini nonmotil, bersifat obligat aerob dan membutuhkan waktu yang lama untuk tumbuh (Tille, 2014, Reviglione&Brien ,2010)



Gambar 1. *Mycobacterium tuberculosis* pada mikroskop elektron (A), dan pada pewarnaan *Acid-fast* (B)(Sumber : Raviglione dkk, 2014)

Dinding sel M. tb terdiri dari membran plasma, peptidoglikan dan arabinogalactan, lapisan lipid yang terdiri atas *mycolic acids* dan glikolipid lain, serta porin dan protein. Dinding M.tb memiliki ciri khas yakni terdiri atas 30-60% lapisan lipid lemak dan memiliki permeabilitas rendah terhadap zat warna dan desinfektan kimia. Hal inilah yang menyebabkan

M.tb Tidak dapat diwarnai menggunakan perwarnaan gram biasa. (Tille, 2014, Pottinger,2014)

C.FAKTOR RISIKO

Strategi pencegahan penyakit TB adalah dengan mengidentifikasi , mengevaluasi dan mengobati individu yang memiliki risiko tinggi infeksi TB laten atau memiliki risiko untuk berkembang menjadi penyakit TB ketika terpapar oleh *Mikobakterium tuberculosis*. Pemeriksaan dan penanganan ITBL ditujukan pada individu pada dua kategori (Tabel 1) (CCD 2013, Getahun,2015)

Identifikasi risiko berkembangnya TB Laten menjadi penyakit TB aktif dibagi menjadi 2 yaitu orang yang memiliki peningkatan kemungkinan paparan terhadap orang dengan penyakit TB dan orang dengan kondisi klinis atau factor lain yang berhubungan dengan peningkatan risiko progresi TB Laten menjadi penyakit TB

1. Sosial ekonomi

Lingkungan yang buruk dan pemukiman yang terlampau padat sehingga pencahayaan dan sirkulasi kurang baik sangat berpotensi dalam penyebaran penyakit TB (Padmanesan et al, 2013 ; CDC, 2013)

2. Status Gizi

Malnutrisi akan mengurangi daya tahan tubuh sehingga akan menurunkan resistensi terhadap berbagai penyakit termasuk TB. Faktor ini sangat berperan di negara –negara miskin. (Padmanesan et al, 2013 ; CDC, 2013,WHO,2018)

3.Usia

Sistim imunitas pada usia lanjut mulai mengalami penuunan .. Semakin lanjut usia seseorang akan semakin meningkatkan risiko terinfeksi TB maupun proses reaktivasi TB aktif. (Padmanesan et al, 2013 ;,WHO,2018)

4. Riwayat Kontak lama dengan penderita TB

Faktor risiko ini memiliki peran penting pada kejadian TB.Kontak lama ini dihubungkan dengan *bacillary load*..Semakin lama kontak dengan pendrita TB aktif akan semakin meningkatkan risiko sesorang untuk terinfeksi dan menderita TB(Padmanesan et al.,2013; WHO,2018)

5. Kondisi immunosupresi

Ko-infeksi HIV adalah factor risiko immunosupresi paling kuat dalam perkembangan penyakit TB Aktif. Penelitian telah melaporkan bahwa angka kejadian TB Laten dan TB aktif. Meningkat seiring dengan semakin meningkatnya angka kejadian HIV. Terbaru dilaporkan bahwa penderita diabetes menunjukkan peningkatan risiko menjadi TB aktif. (Padmanesan et al, 2013; Lonroth et al, 2014).

TABEL 1.KELOMPOK INDIVIDU YANG BERISIKO INFEKSI TB LATEN

Individu dengan risiko infeksi TB baru
Individu yang kontak dekat dengan pasien TB aktif yang belum mendapatkan terapi
Individu yang kontak biasa /kasuan dengan pasien TB aktif yang belum mendapatkan terapi
Pengguna obat-obatan terlarang

Petugas kesehatan dengan risiko terpapar dengan pasien TB aktif yang belum mendapatkan terapi
Individu dengan risiko mengalami reaktivasi
<i>Risiko tinggi</i>
<p>Infeksi HIV</p> <p>Pasien transplantasi, kemoterapi, atau kondisi immunosupresi lainnya</p> <p>Leukemia, limfoma, kanker kepala dan leher</p> <p>Kelainan foto Thorax dengan fibronoduler apical tipikal TB yang sembuh</p> <p>Gagal ginjal terutama pasien dengan terapi hemodialisis</p>
<i>Risiko sedang</i>
<p>Diabetes Melitus</p> <p>Pengguna Glukokortikoid (≥ 15 mg/hari dalam kurun waktu ≥ 1 bulan)</p>
<i>Risiko ringan</i>
<p><i>Underweight</i> ($IMT \leq 20$)</p> <p>Perokok (≥ 1 bungkus/hari)</p>

(Sumber : *Infectious Disease Control and Prevention Clinical Practice Guidelines : Diagnosis of Tuberculosis in Adults and Children, 2013*)

Risiko terjadinya ITBL terutama pada individu yang kontak erat dengan pasien TB aktif dan anak usia di bawah 5 tahun. Salah satu kelompok yang sering mengalami ITBL adalah petugas kesehatan. Penelitian Joshi dkk menunjukkan bahwa prevalensi ITBL pada petugas kesehatan pada negara berkembang dengan pendapatan menengah-rendah yakni sekitar 33-79% dengan risiko tertinggi pada petugas kesehatan di rawat inap TB, laboratorium, unit gawat darurat, dan dokter penyakit dalam. Hal ini sesuai dengan penelitian Martin dkk menunjukkan

bahwa prevalensi ITBL pada Petugas Kesehatan di RSUP H. Adam Malik Medan sebesar 53%. Petugas kesehatan yang bekerja di bangsal paru, penyakit dalam, neurologi, dan ICU memiliki prevalensi >50%. (Martin,2010,Joshi,et al, 2006)

Laporan *Global Tuberculosis Report* oleh WHO pada tanggal 26 September 2018 bahwa secara global estimasi jumlah kasus TB pada tahun 2017 sebanyak 10 juta, penderita laki-laki 5,8 juta, wanita 3,2 juta dan anak-anak sekitar 1 juta. Kasus TB di semua negara menyerang semua kelompok umur, tetapi secara keseluruhan lebih dari 90% adalah dewasa (usia \geq 15 tahun). Dua pertiga populasi penderita TB berada di delapan negara yaitu India (27%), China (9%), Indonesia (8%), Filipina (6%), Pakistan (5%), Nigeria (4%), Bangladesh (4%), dan Afrika Selatan (3%). Hanya 6% dari kasus global berada di wilayah Eropa (3%) dan Amerika (3%). Sisanya ada 22 negara yang melaporkan kasus TB. Sebanyak 9 % diantaranya adalah penderita HIV (72% di Afrika). WHO mengestimasi sekitar 1,7 milyar orang, 23% dari populasi dunia memiliki infeksi TB laten dan berisiko berkembang menjadi TB aktif selama masa hidup mereka. (World Health Organization, 2019)

Munculnya pandemik HIV/AIDS di dunia menambah permasalahan TB. Koinfeksi TB dengan HIV akan meningkatkan risiko kejadian TB secara signifikan. Pada saat yang sama, kekebalan ganda kuman TB terhadap obat anti TB (*multi-drug resistant*, MDR) semakin menjadi masalah akibat kasus yang tidak berhasil disembuhkan. (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2018)

D. PATOGENESIS

Mycobacterium tuberculosis masuk ke dalam tubuh melalui Paru. Ukuran M. tb sangat kecil yakni sekita 1-4 mikron sehingga yang terhirup melalui droplet nuclei masuk ke bronkus hingga alveolus. Inilah yang disebut infeksi primer. Perjalanan terjadinya infeksi hingga manifestasi penyakit sebagian besar ditentukan oleh peranan endogen dalam hal ini status imunologik pasien. Masuknya M.tb ini akan direspon oleh mekanisme imunologis non spesifik (*innate immunity*). Silia dan mukus yang diproduksi oleh sel pada saluran pernapasan atas berperan awal dalam pertahanan fisik yang mencegah infeksi pada sebagian besar orang yang terpajan dengan M. tb dan sebagian kecil dapat melewati sistem mukosiliar akan mencapai alveolus. Makrofag di alveolus merupakan sistem pertahanan *innate immunity* yang berperan dalam memfagosit kuman patogen (M.tb). Proses fagositosis oleh makrofag ini mengawali kaskade kejadian yang dapat menghasilkan eliminasi dan keberhasilan dalam mengendalikan terjadinya infeksi, tuberkulosis laten atau tuberkulosis aktif yang sangat dipengaruhi oleh kualitas sistem imun host, serta keseimbangan antara imunitas host dan invasi kuman TB (Amin, Bahar,2014,Alves,et al,2014).

Proses fagositosis makrofag menyebabkan proses replikasi M.tb berkurang. Makrofag menghasilkan enzim proteolitik dan sitokin dalam upaya menurunkan jumlah bakteri. Pelepasan sitokin-sitokin selanjutnya menarik limfosit T menuju tempat infeksi dan memulaiperan sistem imun adaptif dalam hal ini sistem imun seluler dan sistem imun humoral. Oleh karena kuman tb merupakan bakteri intraseluler sehingga sistem imun

yang berperan dalam infeksi TB lebih dititik beratkan pada sistem imun seluler. Infeksi pada tahap ini belum menunjukkan manifestasi klinik/asimtomatik. Makrofag kemudian mempresentasikan antigen terhadap limfosit T CD4+ dan limfosit T CD8+. Limfosit CD4+ akan melepaskan IFN- γ untuk meningkatkan aktivitas makrofag dan monosit. Limfosit CD4+ juga memproduksi sitokin IL-4, IL-5, IL-10, dan IL-13 yang berperan dalam aktivasi sistem imun humoral. Limfosit T CD8+ bersama NK sel bekerja melisis makrofag yang mengandung *M. tb*. Sebagian besar individu dengan sistem imunitas yang baik akan menyebabkan terhentinya proliferasi *M. tb* dan eliminasi *M. tb* secara spontan (Amin,Bahar,2014,Bozzano,et al,2014,Echlers&Schaibe,2013)

Akumulasi sel limfosit T dan makrofag yang teraktivasi dikelilingi oleh epiteloid (makrofag yang membentuk seperti epitel) dan *multinucleated giant cell* yang terbentuk oleh fusi makrofag akan membentuk lesi granulomatous. Granuloma ini akan menciptakan lingkungan mikro untuk membatasi replikasi dan penyebaran *M. tb*, namun *M. tb* mampu beradaptasi dan bertahan hidup di dalam granuloma. Granuloma pada minggu ke 2 atau 3 akan menjadi nekrotik atau mengalami perkejuan yang disebut nekrosis kaseosa dan ditandai dengan kadar oksigen rendah, pH rendah dan nutrisi terbatas. Kondisi ini menyebabkan aktivitas metabolik *M. tb* rendah dan membatasi pertumbuhan bakteri lebih lanjut.(Reviglione,&O'Brien,2010, Amin,Bahar,2014,Dutta,&Karakousis 2014)

Basil tuberkel yang mencapai permukaan alveolus biasanya diinhalasi sebagai suatu unit yang terdiri dari satu sampai tiga basil,

gumpalan basil yang lebih besar cenderung tertahan disaluran hidung dan cabang besar bronkus dan tidak menyebabkan penyakit. Setelah berada dalam ruang alveolus, biasanya dibagian bawah lobus atas paru atau dibagian atas lobus bawah, basil tuberkel ini membangkitkan reaksi peradangan. Leukosit polimorfonuklear tampak pada tempat tersebut dan memfagositosis kuman namun tidak membunuh organisme tersebut. Sesudah hari-hari pertama, leukosit diganti oleh makrofag. Alveoli yang terserang akan mengalami konsolidasi, dan timbul pneumonia akut. Pneumonia selular ini dapat sembuh dengan sendirinya, sehingga tidak ada sisa yang tertinggal, atau proses dapat berjalan terus, dan kuman terus difagositosis atau berkembangbiak didalam sel. Basil juga menyebar melalui getah bening regional. Makrofag yang mengadakan infiltrasi menjadi lebih panjang dan sebagian bersatu sehingga membentuk sel tuberkel epiteloid, yang dikelilingi oleh limfosit. Reaksi ini biasanya membutuhkan waktu 10-20 hari.(Global TB,2017)

Nekrosis bagian sentral lesi memberikan gambaran yang relatif padat seperti keju disebut nekrosis kaseosa. Daerah yang mengalami nekrosis kaseosa dan jaringan granulasi disekitarnya yang terdiri dari sel epiteloid dan fibroblast menimbulkan respon berbeda. Jaringan granulasi menjadi lebih fibrosa, membentuk jaringan parut kolagenosa yang akhirnya membentuk suatu kapsul yang mengelilingi tuberkel. Respon lain yang dapat terjadi pada daerah nekrosis adalah pencairan, yaitu bahan cair terlepas ke dalam bronkus yang berhubungan dan menimbulkan kavitas. Bahan tuberkular yang dilepaskan dari dinding kavitas akan masuk kedalam percabangan trakeobronkial. Proses ini dapat berulang

kembali dibagian lain dari paru, atau basil dapat terbawa sampai ke laring, telinga tengah atau usus(Global TB,2017)

Kavitas yang kecil dapat menutup dan meninggalkan jaringan parut fibrosis.walaupun tanpa pengobatan Bila peradangan mereda, lumen bronkus dapat menyempit dan tertutup oleh jaringan parut yang terdapat dekat dengan taut bronkus dan rongga. Bahan perkijuan dapat mengental dan tidak dapat mengalir melalui saluran penghubung, sehingga kavitas penuh dengan bahan perkijuan, dan lesi mirip dengan lesi berkapsul yang tidak terlepas. Keadaan ini dapat tidak menimbulkan gejala dalam waktu lama atau membentuk lagi hubungan dengan bronkus dan dapat menjadi tempat peradangan aktif.

Penyakit dapat menyebar melalui getah bening atau pembuluh darah. Organisme yang lolos dari kelenjar getah bening akan mencapai aliran darah dalam jumlah kecil, yang kadang-kadang dapat menimbulkan lesi pada berbagai organ lain. Jenis penyebaran ini dikenal sebagai penyebaran limfohematogen yang biasanya sembuh sendiri. Penyebaran secara hematogen merupakan suatu fenomena akut yang biasanya menyebabkan TB milier, ini terjadi apabila fokus nekrotik merusak pembuluh darah sehingga banyak organisme masuk ke dalam sistem vaskular dan tersebar ke organ-organ tubuh.(Global TB,2017)

Salah satu pendekatan yang dapat mengurangi insiden TB adalah dengan pencegahan infeksi TB laten berkembang menjadi TB aktif. Insiden penderita infeksi TB laten sekitar sepertiga populasi dunia.

Pencegahan penyakit TB aktif dengan pengobatan *Latent Tuberculosis Infection* (LTBI) adalah komponen penting dari strategi WHO *End TB*.

Tempat masuk kuman *M. tb* adalah saluran pernapasan, saluran pencernaan dan luka terbuka pada kulit. Kebanyakan infeksi TB terjadi melalui udara, yaitu melalui inhalasi droplet yang mengandung kuman-kuman basil tuberkel yang berasal dari orang yang terinfeksi. Infeksi ini dapat sembuh spontan atau 5% akan berkembang menjadi infeksi lokal (misalnya meningitis). Resistensi terhadap tuberkulosis tergantung fungsi sel T. Penyakit dapat mengalami reaktivasi jika imunitas menurun (diperkirakan risiko reaktivasi sepanjang hidup adalah 10%). Individu yang *immunocompromised* seperti pasien yang positif HIV, infeksi cenderung berkembang menjadi penyakit yang bergejala (.who,2015,Tille, 2014,Alves, et.al, 2014)

Tuberkulosis adalah penyakit yang dikendalikan oleh respon imunitas yang diperantarai sel. Sel efektor adalah makrofag, dan limfosit (biasanya sel T) adalah sel imunoresponsif. *Mycobacterium tuberculosis* diingesti oleh makrofag, tetapi dapat lolos dari fagolisosom untuk kemudian bermultiplikasi dalam sitoplasma. Respon imun yang hebat menyebabkan destruksi jaringan setempat (kavitasi pada paru) dan efek sistemik seperti demam dan penurunan berat badan yang diperantarai oleh sitokin (WHO,2015, Martin,2010, Joshi,2006,Tille, 2014, Pottinger et al,2014)

Penularan penyakit memerlukan sumber, host yang rentan dan patogen potensial yang dapat menular melalui kontak langsung (misalnya, dengan *fomites* atau media lingkungan, seperti air), atau

melalui udara. Untuk tuberkulosis pada manusia, sebagian besar sumber infeksi baru adalah manusia lain dengan penyakit paru. Tuberkulosis zoonosis, sebagian besar dihasilkan oleh *Mycobacterium bovis* dari ternak dan produk makanan mereka, jumlahnya hanya sekitar 1,4% dari keseluruhan kasus tuberkulosis pada manusia. Oleh karena itu, untuk sebagian besar kasus, *M. tb* dapat bertahan di lingkungan luar dan kering, terhirup ke paru-paru host dan mengganggu pertahanan tubuh yang menyebabkan infeksi baru

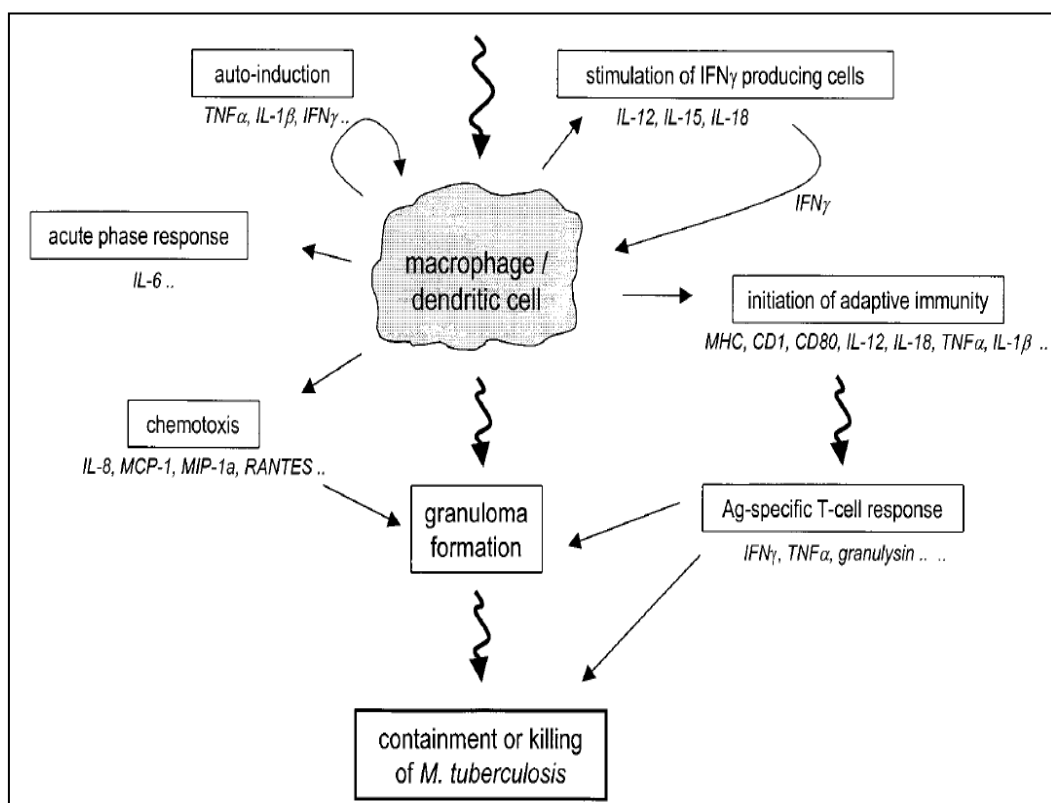
E.Aspek Immunologi Tuberkulosis

Interaksi antara makrofag, dengan sel T dan berbagai sitokin terlibat dalam respons imun terhadap TB . Imunitas terhadap *M.tb* sangat bergantung pada sitokin, terutama *IFN-γ* yang diproduksi oleh makrofag dan sel T antigen-spesifik (Katial, 2001). Ada dua macam respons imun terhadap infeksi TB yaitu respons imun selular (sel T dan makrofag teraktivasi) bersama sejumlah sitokin dan pertahanan secara humoral (*antibody-mediated*). Respons imun selular lebih banyak berperan dalam pertahanan tubuh terhadap infeksi TB.. Setelah terinfeksi *M.tb*, maka respons imun akan bekerja mengaktivasi limfosit T CD4 untuk memproduksi *IFN-γ* yang selanjutnya akan mengaktivasi makrofag sehingga meningkatkan kemampuan fagositosis. Selain itu, juga diproduksi TNF oleh limfosit T dan makrofag yang berperan dalam aktivasi makrofag dan reaksi inflamasi lokal. Basil ini mampu hidup di dalam makrofag karena dapat mencegah penggabungan antara lisosom dengan

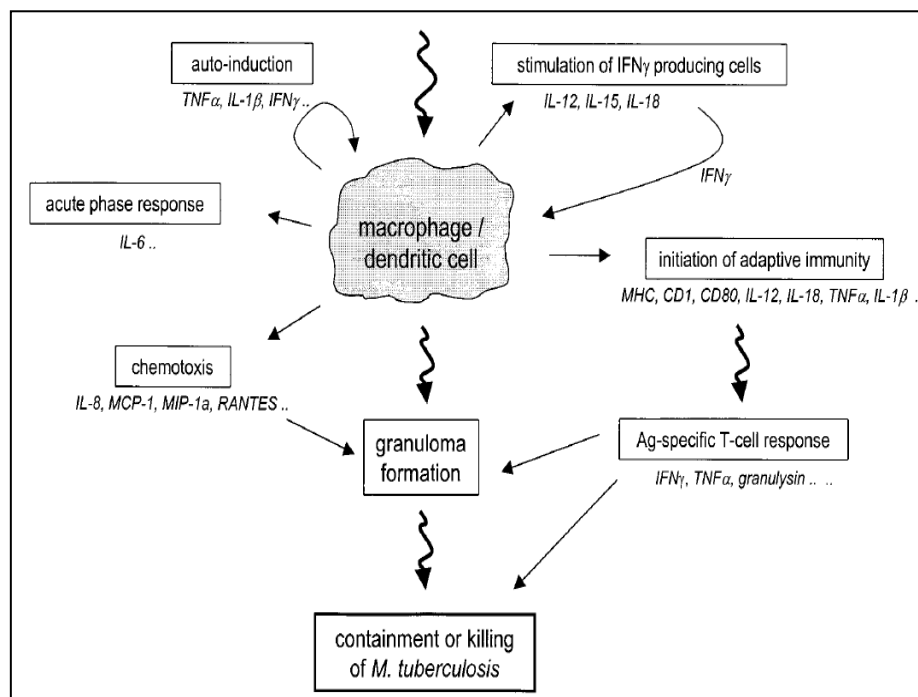
vakuola fagositik (fagosom), sehingga tidak pernah terbentuk fagolisosom terhadap M.tb (Kauffman, 2003).

1. Respons Imun Alami

Respon awal infeksi terhadap M.tb oleh makrofag bersama dengan sel dendritik dan monosit bekerja dalam proses fagositosis terhadap M.tb. Sel-sel fagositosis menginisiasi dan mengarahkan imunitas sel T melalui presentasi antigen M.tb dan ekspresi sinyal ko-stimulator serta sitokin. Respons makrofag dan sel dendritik terhadap M.tb menyebabkan terjadinya reaksi inflamasi yang melibatkan berbagai sitokin inflamasi, sehingga respons imun tubuh yang lain seperti formasi granuloma, kemotaksis, respons sel T antigen spesifik, serta respons imun adaptif dapat bekerja sama untuk menahan infeksi M.tb bahkan



menuju daerah terinfeksi (Pieters, 2008).



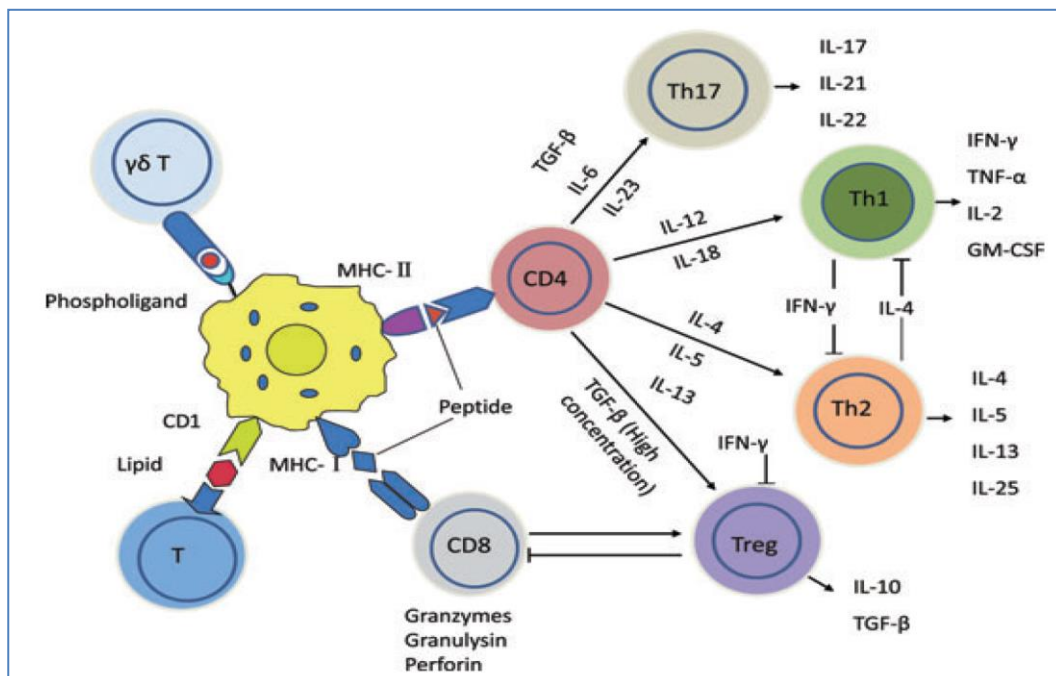
Gambar 2. Respons inflamasi oleh sel-sel fagositosis terhadap *M.tb* (Sumber: Van Crevel, 2002)

2. Respons Imun Adaptif

Sumber utama IFN- γ dan IL-2 yakni Sel T CD4 memiliki efek sitotoksik terhadap bakteri *M.tb*. Selain itu, sel T CD4 juga mampu menginduksi aktivitas sel T memori, respons hipersensitivitas, dan mengatur respons sel T CD8. Sel T CD8 dapat mengenali antigen spesifik *Mtb* seperti ESAT-6, antigen 19 kD, dan antigen *M.tb* 39 serta dapat menstimulasi produksi IFN- γ dan TNF- α (Carranza, 2006).

Kurangnya jumlah sel T CD4 mengakibatkan hambatan distribusi sel-sel T CD8 dari kelenjar getah bening menuju organ terinfeksi sehingga

menghambat respons imun protektif. Sel T *helper*-1 (Th1) CD4 lebih kuat dalam menginduksi IFN- γ dibanding sel T CD8. Sel T CD8 sitolitik mensekresi granulin, *granzyme*, dan perforin untuk membunuh sel-sel yang terinfeksi *Mtb*. Sel Th CD4 dapat berdiferensiasi menjadi Th1, Th2, Th17, serta sel T regulator (Treg). Sel-sel Th1 memproduksi berbagai sitokin, terutama IFN- γ , TNF- α , IL-2, limfotoksin, dan GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) yang dapat mendorong stimulasi sel Th1, CTL, serta pematangan dan aktivasi makrofag maupun granulosit. Sel-sel Th2 memproduksi faktor-faktor stimulator sel B seperti IL-4, IL-5, IL-10, dan IL-13 yang dapat menginduksi produksi antibodi, namun di sisi lain dapat pula menekan respons imun tipe Th1. Respons imun adaptif terhadap *M.tb* dapat dilihat pada gambar 3 (Dheda, 2010).



Gambar 3. Respons imun adaptif terhadap TB
(Sumber: Dheda, 2010)

F. DIAGNOSIS

. Diagnosis tuberkulosis dapat ditegakkan berdasarkan gejala klinik, pemeriksaan fisik/jasmani, pemeriksaan bakteriologik, radiologik dan pemeriksaan penunjang lainnya

1. GEJALA KLINIS

Gejala klinik Gejala klinik tuberkulosis dapat dibagi menjadi 2 golongan, yaitu gejala respiratorik (atau gejala organ yang terlibat) dan gejala sistemik.

.a. Gejala respiratorik:

- batuk \geq 3 minggu
- batuk darah
- sesak napas
- nyeri dada

. Batuk yang pertama terjadi karena iritasi bronkus, dan selanjutnya batuk diperlukan untuk membuang dahak ke luar. gejala tuberkulosis ekstra paru tergantung dari organ yang terlibat, misalnya pada limfadenitis tuberkulosa akan terjadi pembesaran yang lambat dan tidak nyeri dari kelenjar getah bening, pada meningitis tuberkulosa akan terlihat gejala meningitis, sementara pada pleuritis tuberkulosa terdapat gejala sesak napas & kadang nyeri dada pada sisi yang rongga pleuranya terdapat cairan.

b. Gejala sistemik: Demam , malaise, keringat malam, anoreksia,
berat badan menurun (PDPI,2011)

2. PEMERIKSAAN FISIK

Pada pemeriksaan jasmani kelainan yang akan dijumpai tergantung dari organ yang terlibat. Pada tuberkulosis paru, kelainan yang

didapat tergantung luas kelainan struktur paru. Pada permulaan (awal) perkembangan penyakit umumnya tidak (atau sulit sekali) menemukan kelainan. Kelainan paru pada umumnya terletak di daerah lobus superior terutama daerah apex dan segmen posterior , serta daerah apex lobus inferior. Pada pemeriksaan jasmani dapat ditemukan antara lain suara napas bronkial, amforik, suara napas melemah, ronki basah, tanda-tanda penarikan paru, diafragma & mediastinum. (Mario,et al,,2010,PDPI,2016)

Pada pleuritis tuberkulosa, kelainan pemeriksaan fisik tergantung dari banyaknya cairan di rongga pleura. Pada perkusi ditemukan pekak, pada auskultasi suara napas yang melemah sampai tidak terdengar pada sisi yang terdapat cairan.

Pada limfadenitis tuberkulosa, terlihat pembesaran kelenjar getah bening, tersering di daerah leher (pikirkan kemungkinan metastasis tumor), kadang-kadang di daerah ketiak. Pembesaran kelenjar tersebut dapat menjadi "cold abscess" (Mario et al, 2010; PDPI, 2016, Retno, 2012).

3. PEMERIKSAAN LABORATORIUM

a. Pemeriksaan Bakteriologik

. Bahan pemeriksasan Pemeriksaan bakteriologik untuk menemukan kuman tuberkulosis mempunyai arti yang sangat penting dalam menegakkan diagnosis. Bahan untuk pemeriksaan bakteriologik ini dapat berasal dari dahak, cairan pleura, liquor cerebrospinal, bilasan bronkus, bilasan lambung, kurasan bronkoalveolar (bronchoalveolar lavage /BAL), urin, faeces dan jaringan biopsi (termasuk biopsi jarum halus /Pemeriksaan biakan kuman:

Pemeriksaan awal untuk mendiagnosis TB adalah dengan pemeriksaan Basil Tahan Asam (BTA). Pemeriksaan ini sederhana, cepat dan tidak mahal. Untuk mendapatkan hasil pemeriksaan sputum BTA yang positif pada pewarnaan Ziehl- Neelsen diperlukan jumlah bakteri antara 5000- 10.000 BTA/ ml sputum. Pemeriksaan ini memiliki sensitivitas yang rendah yaitu 50- 70 % tetapi spesifisitas tinggi (Mahon, et al, 2015)

b.1. Pemeriksaan biakan M.tuberculosis dengan metode konvensional

- Egg base media (Lowenstein-Jensen, Ogawa, Kudoh)
- Agar base media : Middle brook

Melakukan biakan dimaksudkan untuk mendapatkan diagnosis pasti, dan dapat mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* dan juga *cobacterium other than tuberculosis* (MOTT). Untuk mendeteksi MOTT dapat digunakan beberapa cara, baik dengan melihat cepatnya pertumbuhan, menggunakan uji nikotinamid, uji niasin maupun pencampuran dengan cyanogen bromide serta melihat pigmen yang timbul (Mahon et al., 2015, Mario et al., 2013).

b.2. Pemeriksaan biakan otomatis

Dasar teknik pemeriksaan biakan ini adalah metode radiometrik. *M tuberculosis* memetabolisme asam lemak yang kemudian menghasilkan CO₂ yang akan dideteksi growth indexnya oleh mesin ini. Sistem ini dapat menjadi salah satu alternatif pemeriksaan biakan secara cepat untuk membantu menegakkan diagnosis.

c. Pemeriksaan serologi dengan berbagai metode

c.1: Enzym linked immunosorbent assay (ELISA)

Teknik ini merupakan salah satu uji serologi yang dapat mendeteksi respon humoral berupa proses antigen-antibodi yang terjadi. Beberapa masalah dalam teknik ini antara lain adalah kemungkinan antibodi menetap dalam waktu yang cukup lama.

Interferon Gamma Release Assays (IGRA)

Interferon Gamma Release Assays (IGRA) adalah uji in vitro dengan metode *Enzyme-Linked Immunoassorbent Assay (ELISA)* yang mengukur reaksi pembentukan interferon gamma dalam darah pasien yang dikaitkan dengan infeksi kuman *M.tb*. Tes ini dilakukan untuk menentukan TB Laten dengan mengukur respon imun seluler terhadap antigen spesifik *M.tb* dalam darah. Saat ini terdapat 2 jenis pemeriksaan IGRA yang terdapat dipasaran, yaitu QuantiFERON-TB Gold In-Tube Assay (QFT-GIT) dan T-SPOT-TB. Untuk menghindari reaksi silang, tes ini menggunakan antigen yang dikode pada *region of difference (RD-I)* yang merupakan bagian genom *M. tb* yang tidak terdapat pada genom BCG Atau *Mycobacterium other than Tuberculosis (MOTT)*. Hasil pemeriksaan IGRA adalah berdasarkan jumlah IFN- γ yang dilepaskan. Hasil kualitatif dilaporkan sebagai positif, negative, indeterminate atau borderline, Hasil kuantitatif dilaporkan sebagai nilai numerik dari respon terhadap antigen TB dan dua control, yaitu Nil dan Mitogen yang dapat digunakan pada kasus individu dengan kombinasi faktor risiko (,CDC,2013,Getahun,et al,2015)

c.2. Immunochromatographi/ICT

Uji Immunochromatographi (ICT) adalah uji serologik untuk mendeteksi antibodi M.tb dalam serum. ICT merupakan uji diagnostik TB yang menggunakan 5 antigen spesifik yang berasal dari membran sitoplasma M.tuberculosis, diantaranya antigen M. tb 38 kDa. Ke 5 antigen tersebut diendapkan dalam bentuk 4 garis melintang pada membran immunokromatografik (2 antigen diantaranya digabung dalam 1 garis) disamping garis kontrol. Uji dinyatakan positif bila setelah 15 menit terbentuk garis kontrol dan minimal satu dari empat garis antigen pada membran. (PDPI,2016)

c.3.Uji tuberkulin

Tujuan tes adalah untuk menentukan apakah seseorang terinfeksi *M. tuberculosis*. Jika seseorang sudah terinfeksi kuman TB, reaksi hipersensitivitas tipe *delayed* dapat terdeteksi dalam 2-8 minggu setelah infeksi. Tes kulit dilakukan secara injeksi intradermal secara teknik *Mantoux* menggunakan 0,1 mL dari 5 TU larutan *purified protein derivative* (PPD). Pembacaan dan interpretasi dilakukan dalam 48- 72 jam setelah injeksi. (CDC,2013,GetahunH,et al,2015)

d. Polymerase chain reaction (PCR):

Pemeriksaan PCR adalah teknologi canggih yang dapat mendeteksi DNA, termasuk DNA M.tuberculosis. Pada pemeriksaan deteksi M. tb , bahan / spesimen pemeriksaan dapat berasal dari paru maupun luar paru sesuai dengan organ yang terlibat.

Nucleic acid amplification /NAAT

Menggunakan asam nukleat amplifikasi asam nukleat amplifikasi pengujian (NAAT) adalah metode yang digunakan untuk mendeteksi TB

serta patogen lain. Tes NAAT mencari bahan genetik atau molekul (dikenal sebagai DNA atau RNA) dalam sampel, dan karena itu disebut genotypic atau molekul pengujian. Karena resistensi terhadap obat yang tertulis dalam informasi genetik M.tb, banyak tes NAAT juga dapat melakukan genotypic DST. NAAT jauh lebih cepat . Keuntungan lain adalah bahwa banyak sampel dapat diproses sekaligus (disebut *throughput* yang tinggi) juga kurang kemungkinan akan terpengaruh oleh kontaminasi.

GeneXpert

GeneXpert MTB RIF Cepheid adalah cartridge berbasis NAAT yang dapat digunakan untuk banyak indikasi yang berbeda. WHO-mendukung penggunaan cartridge MTBt/RIF yang secara simultan dapat mendeteksi TB dan resistensi terhadap Rifampisin, .Tes ini otomatis dan cepat sekitar dua jam., sangat baik menggunakan specimen pada dahak, dan kepekaan lebih baik daripada tes mikroskopik, termasuk untuk orang dengan HIV. Pemeriksaan juga dapat menggunakan sampel lain untuk mendiagnosa EPTB . cartridge XDR dapat mendeteksi resistensi terhadap isoniazid dan obat-obatan lini kedua (Kemenkes, 2016)

4.Pemeriksaan histopatologi jaringan

Bahan histopatologi jaringan dapat diperoleh melalui biopsi paru dengan trans bronchial lung biopsy (TBLB), trans thoracal biopsy (TTB), biopsi paru terbuka, biopsi pleura, biopsi kelenjar getah bening dan biopsi organ lain diluar paru. Dapat pula dilakukan biopsi aspirasi dengan jarum halus (BJH =biopsi jarum halus). Pemeriksaan biopsi dilakukan untuk membantu menegakkan diagnosis, terutama pada tuberkulosis ekstra

paru Diagnosis pasti infeksi TB didapatkan bila pemeriksaan histopatologi pada jaringan paru atau jaringan diluar paru memberikan hasil berupa granuloma dengan perkejuan

5..PEMERIKSAAN RADIOLOGI

Pemeriksaan standar ialah foto toraks PA dengan atau tanpa foto lateral. Pemeriksaan lain atas indikasi : foto apiko-lordotik, oblik, CT-Scan. Pada pemeriksaan foto toraks, tuberkulosis dapat memberi gambaran bermacam-macam bentuk (multiform).

Gambaran radiologik yang dicurigai sebagai lesi TB aktif :

- Bayangan berawan / nodular di segmen apikal dan posterior lobus atas paru dan segmen superior lobus bawah
- Kaviti, terutama lebih dari satu, dikelilingi oleh bayangan opak berawan atau nodular
- Bayangan bercak milier
- Efusi pleura unilateral (umumnya) atau bilateral (jarang)

Gambaran radiologik yang dicurigai lesi TB inaktif

- Fibrotik pada segmen apikal dan atau posterior lobus atas
Kalsifikasi atau fibrotik
- Kompleks ranke
- Fibrotoraks/Fibrosis parenkim paru dan atau penebalan pleura
(PDPI,2016)

G.KLASIFIKASI

Penentuan klasifikasi penyakit dan tipe pasien tuberkulosis memerlukan suatu “definisi kasus” yang meliputi empat hal , yaitu:

- Lokasi atau organ tubuh yang sakit: paru atau ekstra paru;

- Bakteriologi (hasil pemeriksaan dahak secara mikroskopis): BTA positif atau BTA negatif;
- Riwayat pengobatan TB sebelumnya, pasien baru atau sudah pernah diobati
- Status HIV pasien.

Beberapa istilah dalam definisi kasus:

- Kasus TB : Pasien TB yang telah dibuktikan secara mikroskopis atau didiagnosis oleh dokter atau petugas TB untuk diberikan pengobatan TB.
- Kasus TB pasti (definitif) : pasien dengan biakan positif untuk *Mycobacterium tuberculosis* atau tidak ada fasilitas biakan, Sekurang- kurangnya 2 dari 3 spesimen dahak SPS hasilnya BTA positif

Natural Resistance Associate Macrophage Protein-1 (NRAMP-1)

Natural Resistensi Associated Macrophage Proteins (NRAMP) ditemukan oleh Hughes ketika mempelajari gen-gen yang terdapat pada mamalia. NRAMP termasuk ke dalam sebuah sistem kekebalan tubuh dari seluruh protein membran yang dikenal pula dengan nama *Solute Carrier family 11(SLC11A)*.

Natural Resistensi Associated Macrophage Proteins (NRAMP-1 (SLC11A1) adalah sebuah gen makrophage intraseluler yang berlokasi pada membran phagosomal di dalam kromosom 2q35. Ia berfungsi sebagai pengangkut ion kation yaitu Fe^{2+} , Zn^{2+} dan Mn^{2+} . *NRAMP-1* memiliki pH yang dapat mentranspor salah satu ion metal ke dalam atau ke luar dari fagosom melawan sebuah gradien proton kemudian

merangsang kerja imun selular dengan melisiskan dan membunuh benda-benda asing (Jabado, *et al.*, 2000; Larhammar, *et al.*, 2002; Roig, *et al.*, 2002).

Gen *NRAMP-1* sebelumnya dikenal dengan nama *Solute Carrier Family 11 (SLC11A1)* merupakan gen spesifik yang dapat menyandi proton yang digabung dengan divalen pengangkut ion logam dan pengaktifan kerja makrofag. Gen ini memiliki beberapa region antara lain: D543N (1703 G/A), 3' untranslated region (3'UTR, 1729+55 del 4 TGTG/del) yang berada pada daerah 55 nukleotida downstream dari kodon terakhir pada exon 15, nukleotida tunggal pada Intron 4 (469+14 G/C) yang mana dapat memodulasi fungsi makrofag dan dilaporkan mempunyai hubungan dengan penyakit yang terkait dengan kekebalan tubuh (Fitness, *et al.*, 2004).

Gen *natural resistance associated macrophage protein (NRAMP-1)* berperan dalam modulasi respon imun terhadap serangan kuman pathogen. Gen ini merupakan salah satu gen yang mempengaruhi pengaktifan kerja makrofag yakni dapat menyandi protein integral yang dilokalisir pada endosomal dan kompartemen lisosomal makrofag. Selain itu gen ini dapat pula menyandi suatu divalent kation pengangkut protein yang dilibatkan dalam kontrol replikasi intrafagosomal pada pathogen intraseluler dengan mengubah lingkungan fagosomal (Dustan, *et al.*, 2001).

Protein *NRAMP1* adalah suatu protein membrane integral yang terungkap dalam ruang lisosom monosit dan makrofag. Meskipun mekanisme biokimia aksi di tempat ini masih belum jelas, homolog yang

dapat diidentifikasi pada berbagai spesies binatang, sebetulnya menggambarkan suatu kelompok protein yang melindungi bakteri ke manusia. Baru baru ini anggota kedua dari *NRAMP family*, yakni *NRAMP 2* telah ditemukan yang menunjukkan adanya mutasi pada model binatang yang defisiensi besi. Protein *NRAMP2* kemudian menjadi *major – transferrin- independent iron up take system* pada usus. Hasil ini menunjukkan bahwa *NRAMP 1* dapat mengontrol replikasi mikroba dengan secara aktif memindahkan besi atau *divalent cation* lainnya dari ruang fagosom.

Penelitian yang dilakukan oleh Ye dan Zhu tentang korelasi antara *NRAMP1 gene polymorphism* dengan kepekaan terhadap penyakit Tuberkulosis pada populasi Tibet menunjukkan bahwa inbalans linkage, mengindikasikan TGTG-del allele dapat menjadi satu gen yang rentan terhadap tuberkulosis pada populasi tibet yang membawa *TGTG-del Genotype* adalah lebih rentan terhadap penyakit tuberkulosis.

Penelitian oleh Twin dan adoptee menunjukkan bahwa faktor genetik host merupakan faktor penentu utama kerentanan terhadap penyakit menular pada manusia. Studi ini juga menemukan *heritabilities* yang tinggi untuk banyak respon imun humoral dan selular untuk antigen patogen, dengan sebagian besar pemetaan komponen genetik di luar kompleks histokompatibilitas utama. Studi kandidat gen telah melibatkan beberapa *immunogenetic polymorphisme* pada penyakit menular manusia. Variasi HLA telah dikaitkan dengan kerentanan atau resistensi terhadap malaria, TBC, kusta, AIDS dan persistensi virus hepatitis. Variasi

dalam promotor gen faktor nekrosis tumor juga telah dikaitkan dengan beberapa penyakit menular. Kemakin reseptor polimorfisme mempengaruhi kerentanan terhadap infeksi HIV-1 dan progresifitas untuk AIDS. Bentuk aktif vitamin D memiliki efek imunomodulator, dan allelic varian vitamin D reseptor tampaknya terkait dengan diferensial kerentanan terhadap beberapa penyakit menular. *NRAMP1*, gen macrophage terlibat dalam kerentanan terhadap tuberkulosis di Afrika. Seluruh genom linkage analisis multi kasus keluarga digunakan untuk memetakan dan mengidentifikasi lokus baru yang mempengaruhi kerentanan terhadap penyakit menular. Ada kemungkinan bahwa kerentanan terhadap mikroorganisme sebagian ditentukan oleh sejumlah besar polimorfik gen, dan identifikasi ini harus memberikan wawasan dalam mekanisme pelindung dan patogen pada penyakit menular.

Identifikasi dan karakterisasi faktor faktor genetik yang mempengaruhi kerentanan alamiah terhadap penyakit menular pada manusia dan hewan percobaan seperti tikus memberikan wawasan baru tentang pertahanan tubuh terhadap infeksi. Pada tikus, mekanisme kerentanan dan pertahanan terhadap terhadap pathogen intraseluler seperti tuberculosis, salmonella dan leishmania dikendalikan oleh pertahanan alamiah terkait gen protein makrofag *NRAMP 1* pada kromosom 1 yang mempengaruhi tingkat replikasi kuman intraseluler di makrofag. *NRAMP 1* menyandi protein membrane integral yang diekspresikan secara eksklusif dalam makrofag/monosit dan lekosit PMN. pengamatan ini mendukung hipotesis bahwa *NRAMP 1* yang

merupakan protein fagosit spesifik dapat mengatur replikasi bakteri intraphagosomal yang tidak terkait secara antigen dengan mengendalikan konsentrasi kation divalent. Studi geetik terbaru menemukan varian lokus alel *NRAMP 1* pada manusia yang terkait dengan kerentanan terhadap kusta (*Mycobacterium leprae*) dan tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*) dan arthritis Rheumatoid (Gros,et al,1998,Govoni,et al, 1995)

Penelitian yang dilakukan oleh Hatta, dkk, 2010 dengan judul *NRAMP1 /SLC11A1 Gene Polymorphism and Host Susceptibility to Mycobacterium tuberculosis and M. leprae in South Sulawesi,Indonesia* “. Dalam kasus penderita TB, tidak ada hubungan yang signifikan yang diamati pada salah satu dari tiga polimorfisme (D543N,3’UTR dan INT4) pada populasi ini..Perbedaan diantara laporan- laporan ini mungkin dikaitkan dengan keragaman kelompok Ras..Ketidak seimbangan hubungan yang sempurna antara D543N dan 3 “UTR ditemukan pada populasi ini. *NRAMP 1 /SLC11A1 polymorfisme* menjadi salah satu factor genetik host yang penting dari respon imun terhadap penyakit lepra, tetapi kerentanan terhadap penyakit yang disebabkan oleh Mikobakterium ditentukan bukan hanya oleh *NRAMP1* , namun banyak faktor lain juga..

Penelitian Jing Jin et all, 2009 yang berjudul “*SLCC11A1(Formely NRAMP1) Gene Polymorphism Associated with Pediatric Tuberculosis in China*” 136 pasien anak dengan tuberculosis dan 435 subjek control..Polimorfism *SLC11A1* dikaitkan dengan TB anak, Secara klinis TB anak berbeda dari TB dewasa dan penellitian efek gen rentan pada TB anak akan memberikan informasi tambahan tentang mekanisme

molekuler genetik yang terlibat dalam perkembangan TB anak dan juga membantu dalam pencegahan penyebaran TB. Hal ini sangat relevan untuk mengurangi TB dewasa yang berkembang dari infeksi TB laten pada masa kanak-kanak. Hasil penelitian menunjukkan bahwa frekuensi polimorfisme TGTG+/- dan TGTG - / -. Di lokus 3 "UTR *SLC11A1* secara signifikan lebih tinggi pada kelompok TB yang menunjukkan bahwa lokus 3 "UTR berkaitan dengan kerentanan TB pada anak-anak Cina..

Meskipun mekanisme biokimia *NRAMP1* masih belum diketahui, *NRAMP1* homolog telah diidentifikasi pada banyak spesies binatang lain dan mendefinisikan sebuah kelompok protein bakteri manusia. Beberapa homolog ini telah ditunjukkan untuk menjadi divalent kation pengangkut. Baru-baru ini, kedua anggota keluarga *NRAMP* Mamalia, *NRAMP2*, ditemukan dan ditunjukkan bermutasi dalam hewan model yang kekurangan zat besi. *NRAMP2* protein kemudian ditunjukkan untuk menjadi sistem penyerapan besi *transferrin-independen* utama dari usus. Bersama-sama, hasil ini menunjukkan bahwa *NRAMP1* dapat mengendalikan replikasi mikroba intraseluler dengan aktif mengangkut besi atau kation divalent lainnya dari ruang phagosomal.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa gen ini mengatur konsentrasi divakasi dalam fagosome makrofag. Oleh karena itu kandidat gen yang kuat untuk kepekaan manusia terhadap *M. tb*. Beberapa polimorfisme telah ditunjukkan pada *NRAMP 1* dan yang lainnya telah menunjukkan pengaruh pada fungsi gen

Kepekaan dan resistensi terhadap TB paru adalah merupakan hasil interaksi kompleks antara *host gene* dan faktor lingkungan (di sini

telah ditetapkan bahwa semua factor yang berhubungan dengan TB paru kecuali *host gene* meliputi lingkungan ekstrinsik dan factor intrinsic(gaya hidup host). Beberapa studi sebelumnya telah mengidentifikasi dengan baik faktor faktor lingkungan yang berkaitan dengan TB paru, seperti Imunisasi BCG, riwayat keterpaparan dengan TB paru, merokok, konsumsi alcohol, status nutrisi, status sosio ekonomi rendah, kepadatan, sanitasi, dan hygiene .

Telah ditunjukkan pentingnya peran *host gene* pada kepekaan penyakit , namun pada beberapa penelitian *case-control* berbasis populasi, menunjukkan peran nyata dari kandidat *host gene* cenderung dikacaukan dengan factor lingkungan, dan efek kombinasi pada TB paru belum dieksplorasi.

Gen *SLC11A1* menyandi protein *SLC11A1* (550 asam amino) mempengaruhi fungsi fagolisosomal dari makrofag pada transport besi, menjaga keasaman dan produksi nitrit . oksida

Infeksi *M. tb* menyebabkan TB laten pada masa anak anak dan dapat berkembang menjadi TB klinis pada anak anak.. Beberapa studi menunjukkan bahwa variasi *SLC11A1* dapat mempengaruhi fungsi dan mengakibatkan insufisiensi eliminasi *M.tb* dalam makrofag. *M.tb* dapat menjadi laten dalam makrofag host dan dapat menjadi reaktif ketika terjadi penurunan sistim imun host pada orang dewasa. ..Pada penderita TB anak , varian ini dapat mengakibatkan penyakit bermanifestasi secara klinis dikemudian hari.

Berdasarkan efek regulasi negatif dari besi pada aktivitas *IFN- γ* , pengurangan dalam ketersediaan logam ini menghasilkan penurunan

respon imun terhadap mikroba. Mekanisme tersebut diatas telah diteliti pada bakteri intraseluler lainnya, seperti *S. typhimurium*, dan *M. tuberculosis* (Weiss, 2015).

Gen NRAMP-1 mengkode makrofag polipeptida spesifik pada membran protein integral. Analisis urutan nukleotida *NRAMP 1* pada cDNA ditunjukkan dalam 27 perkawinan pada strain tikus yang tidak peka pada fenotifnya (Malo dkk, 1994). Klon cDNA dikloning dan dikarakteristik dari gen *NRAMP 1* manusia. Analisis urutan diindikasikan pada polipeptida manusia yaitu 550 asam amino membran protein dalam 10 sampai 12 yang diduga termasuk domain transmembran (Liu et al, 1995).

Kishi (1999) mengisolasi cDNA yang mengkode *NRAMP 1* manusia yang ukurannya 2,245-bp untuk menghasilkan protein 483 residu asam amino dimana bobot molekularnya adalah 52.8 kD. Dalam hal ini urutan asam amino adalah 89% homolog dengan tikus.

Perubahan asam amino dari asam glisin menjadi asam aspartat pada posisi 169 (G169 dan D169) di dalam *NRAMP1* dihubungkan dengan kepekaan fenotipe. Hubungan antara *NRAMP1* dan kepekaan pada patogen intraseluler yang ditetapkan berdasarkan konstruksi dari *NRAMP* tikus dan resistensi alel transgenik (*NRAMP-1G169*) ini peka pada alel tikus (*NRAMP-1D169*). Pada *typhi murium*, kepekaan alel *NRAMP1* tikus tidak mampu untuk mengendalikan infeksi pada mikroba yang jumlahnya sedikit sampai mengalami kematian. Tetapi *S. typhimurium* tumbuh pada tingkat lebih lambat dan cepat dimusnahkan dari binatang (Dustan et.al., 2001; Brown et al, 2013).

Pada manusia, gen *NRAMP 1* diekspresi dalam makrofag, limfosit dan jaringan paru. Gen ini mengkode suatu protein yang berfungsi sebagai suatu *divalent ion channel* (Samantha & Philip, 2000). Ion besi dapat menghambat pertumbuhan M. TB (Blackwell, et al, 2001). Ketika suatu mutasi gen *NRAMP1* menghasilkan suatu protein NRAMP1 non fungsional akan menghambat mekanisme pertahanan M. tb intraseluler dalam makrofag .

Protein NRAMP1 adalah suatu protein membran integral yang terungkap dalam ruang lisosom dari monosit dan makrofag. Setelah fagositosis , NRAMP1 yang ditargetkan ke membran dari *microbe – containing phagosome* , akan mengurangi /membatasi *intra-phagosomal milieu* yang mempengaruhi replikasi mikroba. Meskipun mekanisme biokimia aksi NRAMP1 di tempat ini masih belum jelas, homolog NRAMP dapat diidentifikasi pada berbagai spesies binatang yang menggambarkan suatu kelompok protein yang melindungi bakteri ke manusia. Baru baru ini anggota kedua dari *NRAMP family* , yakni NRAMP 2 telah ditemukan yang menunjukkan adanya mutasi pada hewan coba yang mengalami defisiensi besi . Protein NRAMP2 kemudian menjadi *major – transferrin- independent iron up take system* pada usus. Hasil ini menunjukkan bahwa *NRAMP 1* dapat mengontrol replikasi mikroba dengan secara aktif memindahkan besi atau *divalent cation* lainnya dari ruang fagosom.

Cellier (2013) mengatakan gen *NRAMP1* berisi sedikitnya 15 exon dan 1 exon disandikan oleh asam amino Ala yang ada di dalam intron 4. Menurut Blackwell dkk. (1995) bahwa gen *NRAMP1* manusia memutar

12 kb dan mempunyai 15 exon. Pada tahap transkripsi, lokasi inisiasi memetakan 148 bp pada proses translasi di kodon inisiasi.

Liu et al. (1995) mengidentifikasi 9 urutan varian exon yang dihubungkan dengan gen *NRAMP1*. Empat varian di dalam daerah persandian gen yaitu 2 pada missin mutasi dan 2 pada substansi nukleotida pengganti. Suatu mikrosatelit terletak dalam region gen, 3 varian di dalam intron, dan 1 varian terletak di dalam 3'UTR. Hubungan 2 marker mikrosatelit ini sangat polimorfik yakni D2S104 dan D2S173 berubah menjadi *NRAMP1* pada 1.5-MB YAC. Marker molekular ini berperan pada *NRAMP1* di dalam kepekaan terhadap penyakit tuberculosis dan makrofag lain.

Pada manusia, polimorfisme yang terbentuk oleh gen *NRAMP1* diduga ada hubungannya dengan *M. tuberculosis* dan leprosy. Gen *NRAMP1* disimpan pada suhu 4⁰C dan tidak boleh dibekukan serta dapat bertahan stabil dalam penyimpanan selama satu tahun (Anonim, 2002).

Sejumlah variasi polimorphisme dapat digunakan untuk mempelajari hubungan antara gen *NRAMP1* dengan beberapa penyakit seperti leprosy dan tuberculosis. Salah satu penelitian dasar untuk menganalisa gen *NRAMP1* pada 160 individu dari Vietnam menunjukkan bahwa gen *NRAMP1* memiliki hubungan dengan penyakit leprosy. Pada penelitian lain, hubungan gen *NRAMP1* dengan uji klimaks tuberculosis pada populasi Gambia (Afrika Barat) menunjukkan bahwa variasi polimorfisme berpengaruh terhadap penyakit tersebut. Identifikasi gen *NRAMP-1* menggambarkan nilai hubungan genomik untuk identifikasi dan karakterisasi kuman penyakit untuk membedakan antara *host* yang mudah

terserang penyakit (*susceptible*) dengan yang resisten (Qureshi, *et al.*, 1999)

Nitric oxide Synthase 2 A (NOS2 A)

Secara khusus ,paradigma pengendalian kekebalan M. tb berpusat pada granuloma dan interaksi sel T dengan sel yang terinfeksi. .Sitokin proinflamasi , seperti *Interferon gamma* dan TNF dapat mengontrol pertumbuhan M.tb intraseluler dalam makrofag melalui produksi NO dan H₂O₂. Namun bukti ini tidak lengkap. Salah satu tantangannya adalah bahwa makrofag dianggap sebagai inang dan pengendali M. tb

Bukti terbaru menunjukkan bahwa makrofag memegang peran kunci dalam penyebaran M. tb.Tantangan lebih lanjut dari paradigma ini adalah penelitian terbaru tentang peran sintase NO yang diinduksi (iNOS) dalam penegendalian M. tb).Secara khusus, tikus yang kekurangan iNOS rentan terhadap infeksi M.tb..Namun konsep ini ditentang oleh eksperimen terbaru, yang menunjukkan pertumbuhan mikobakterium dapat dibedakan dari peradangan..Di sini iNOS tampaknya mengatur peradangan oleh netrofil secara independen dari kontrol pertumbuhan mikobakterium

Nitric Okside (NO) merupakan radikal bebas yang berperan dalam beberapa fungsi biologis antara lain pada konsentrasi rendah sebagai transducer sinyal pada beberapa fungsi fisiologis atau pada konsentrasi tinggi berfungsi sebagai mekanisme pertahanan tubuh terhadap infeksi

pathogen dan dapat pula sebagai mekanisme pertahanan terhadap tumor namun belum diketahui secara pasti mekanismenya.

Nitric Oxide Synthase 2 dikodekan oleh gen polimorfik yang dikenal sebagai *NOS2A* pada kromosom 17q11.2 – q12.. Terlepas dari beberapa hasil yang bertentangan, sebuah mikrosatelit yang sangat polimorfik pentanukleotida (CCTTT) yang terletak di wilayah promotor *NOS2A* telah diindikasikan menjadi fungsional penting dalam pengaturan transkripsi *NOS2A*. Asosiasi mikrosatelit (CCTTT) telah dilaporkan pada penyakit autoimun dan infeksi. Selain itu, polimorfisme dalam promotor proksimal yang melibatkan penyisipan atau penghapusan unit ulangan TAAA telah terbukti berhubungan dengan peningkatan risiko inflamasi.

Begitu banyak informasi mengenai fungsi *nitrit oksida* (NO) antara lain regulasi vaskular, neurotransmisi, sitotoksitas, dan pertahanan tuan rumah. NO terbentuk ketika kelompok guanid dari asam amino esensial Larginine terpecah membentuk NO dan L-citrulline. Reaksi dikatalisasi oleh kelas enzim yang disebut *NO synthases* (*NOS*). Tiga spesies *NOS* telah dikarakterisasi dan gen *NOS* telah diidentifikasi. NO diproduksi secara konstitutif oleh endotel (*eNOS* atau *NOS3*) atau neuronal (*nNOS* atau *NOS1*) sintase, atau dalam konsentrasi yang lebih tinggi oleh sintase IL-1b, dan TNF-a serta oleh endotoksin pada inflamasi. Induksi *NOS2* menghasilkan produksi NO yang lebih banyak dan dapat berkontribusi untuk pertahanan tuan rumah terhadap infeksi bakteri dan parasit.

Nitric oxide (NO) sangat vital untuk fungsi makrofag dan formasi granuloma dalam respon imun terhadap *M. tb* dan membunuh *M.*

tb. secara *in vitro*. *Nitric oxide synthase* dibuat dengan isoform dari tiga gen yang berbeda; *Inducible nitric oxide synthase (iNOS)* yang diproduksi oleh *NOS2A*, *neuronal nitric oxide synthase (nNOS)* yang diproduksi oleh *NOS1* dan *endothelial nitric oxide synthase (eNOS)* yang diproduksi oleh *NOS 3*. Diantara ketiga gen ini, *NOS2 A* yang telah ditetapkan sebagai kandidat untuk TB. (Gomez, et al, 2007, Jamieson, et al, 2004, Qu et al, 2007)

Penelitian tentang hubungan *genome-wide* dan *whole-genome re-sequencing* telah merefleksikan tentang keterlibatan sejumlah variasi dalam region yang berbeda dan kandidat gen dalam hubungannya dengan kepekaan terhadap berbagai penyakit infeksi termasuk TB.

Diantara variasi *immune response gene*, *inducible nitric oxide Synthase (iNOS /NOS 2)* muncul sebagai suatu kandidat gen yang potensial untuk kerentanan terhadap penyakit TB. *iNOS* adalah salah satu dari tiga isoform family enzim *nitric oxide synthase* dengan dua isoform konstitutif lainnya, yaitu *neuronal NOS (nNOS/NOS1)* dan *endothelial NOS (e NOS/ NOS 3)*. Ketiga isoform membagi 50-60 % *sequence homology*. Tidak seperti halnya *nNOS* dan *eNOS*, *iNOS* tidak ada di dalam *resting cells* dan dapat diinduksi oleh berbagai agen infeksi dan sitokin – sitokin *immune-stimulatory*. *iNOS* selanjutnya dikategorikan kedalam *NOS2A*, *NOS2B* dan *NOS2C* yang terletak diantara Chr-17p13.1 dan q25.

Protein *NOS2A / iNOS* yang merupakan generasi NO mengkonversi L- arginine menjadi L-Citrulin dengan bantuan beberapa co-substrat. Diantara fungsi biologis lainnya, NO ditetapkan sebagai suatu mediator imunitas terhadap *M. tb* dan organisme infeksi lainnya.

Mekanisme spesifik pengendalian *M. tb* yang dilakukan oleh NO masih diragukan, melalui asumsi yang ada bahwa mungkin mereka terlibat dalam gangguan protein dan DNA bakteri dan dalam proses signalling atau induksi apoptosis makrofag yang mengandung bakteri. dan juga kemungkinan dalam pembentukan *protective granuloma* NOS2A yang merupakan derivat NO telah dipikasikan dalam kebanyakan penyakit inflamasi seperti demensia, atopia, dan SLE. Hal ini juga tampak dalam pertahanan host terhadap pathogen intraseluler. (Jena et al, 2014)

Suatu molekul yang memegang peran penting dalam pengendalian imunologik yang *broad spectrum* terhadap agen infeksi adalah *iNOS* atau *NOS 2*. *NOS2* memiliki fungsi penting dalam kekebalan bawaan dan pengaturan fungsi kekebalan tubuh.. Efek mematikan dari NO terhadap bakteri telah dijelaskan dengan baik dan tampaknya sangat efisien. Namun, bakteri ini juga telah mengembangkan serangkaian strategi untuk menekan dan menghambat fungsi *NOS2A*. Meskipun NO memiliki struktur yang sederhana, yang mampu mengatur berbagai reaksi kompleks untuk membentuk zat yang dapat membunuh mikroba salah satunya membentuk intermediet nitrogen reaktif.

Pembentukan fagosit di jaringan merupakan tanda awal infeksi. Makrofag dapat dengan cepat membunuh bakteri gram-negatif melalui pengenalan bawaan LPS dan aktivasi *NOS2 NF- κ B-dependent* berikutnya untuk mengaktifkan produksi cepat oksigen reaktif dan intermediate nitrogen yang diperlukan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri. Bakteri memiliki kemampuan untuk memodulasi produksi NO melalui metabolisme L-Arg dengan mengalihkan fenotipe makrofag dari sel-sel

yang diaktifkan sitotoksik ke sel-sel yang rentan terhadap apoptosis. Bakteri dapat mengarahkan jalur metabolisme L-Arg menuju produksi poliamine, kemudian menghambat produksi NO didalam sel inang atau dengan mengalihkan program kematian sel dari apoptosis ke nekrosis sebagai mekanisme pertahanan tubuh bakteri. Polimorfism gen pada *NOS 2A* menjadi faktor kerentanan manusia terhadap infeksi pathogen.

Dalam model murine tuberculosis (TB), NO memainkan peran penting dalam melawan *Mycobacterium tuberculosis* oleh fagosit mononuklear. Pemberian intratrakeal *M. tuberculosis* virulen pada tikus merangsang produksi *NOS2* dan NO pada makrofag alveolar. Contoh terbaik dari fungsi yang terganggu secara genetik (*iNOS* $_ / _$), di mana infeksi *M. tuberculosis* dikaitkan dengan risiko penyebaran dan angka kematian yang lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan *wild tipe mice*.(Mac Micking et al,1997)

Berbeda dengan model murine TB, ada kontroversi lebih besar tentang peran NO dalam membunuh atau membatasi pertumbuhan *M. tb* pada manusia. Telah ditunjukkan bahwa NO yang dihasilkan oleh makrofag manusia yang terinfeksi TB dan oleh sel-sel epitel juga bersifat anti mikobakteri terhadap *M.tuberculosis*. Meskipun demikian, beberapa laporan menunjukkan bahwa makrofag alveolar dari pasien TB menghasilkan peningkatan jumlah NO dibandingkan dengan subyek kontrol yang sehat. (Christina,et al,2013)

Wang et al. menunjukkan bahwa peningkatan ekshalasi NO pada pasien dengan TB adalah karena pengaturan- *NOS2A* dalam makrofag alveolar. Berbeda dengan fungsi NO yang disimpulkan dari tikus (sebagai

molekul mikobakteri), juga dapat berpartisipasi dalam pembentukan granuloma pelindung.

NOS2 disandi oleh gen polimorfik yang dikenal sebagai *NOS2A* pada kromosom 17q11.2 – q12. Beberapa polimorfisme nukleotida tunggal (SNP) dan mikrosatelit telah dijelaskan. Terlepas dari beberapa hasil yang bertentangan, sebuah mikrosatelit yang sangat polimorfik pentanukleotida (CCTTT) yang terletak di wilayah promotor *NOS2A* telah diindikasikan menjadi peran penting dalam pengaturan transkripsi *NOS2A*. Asosiasi mikrosatelit (CCTTT) telah dilaporkan pada penyakit autoimun dan infeksi. Selain itu, polimorfisme dalam promotor proksimal yang melibatkan penyisipan atau penghapusan unit ulangan TAAA telah terbukti berhubungan dengan peningkatan risiko kelainan inflamasi. Polimorfism Gen *NOS2A* erat kaitannya dengan kerentanan terhadap penyakit infeksi salah satunya infeksi TB.

Mekanisme molekuler yang tepat dari aktivasi makrofag yang membatasi *Mtb* belum dapat ditetapkan. Satu dari kemungkinan mediator kontrol mikobakteri adalah ekspresi kadar nitrit oksida tinggi setelah induksi dari *inducible nitrit oksida sintase (iNOS) gen (NOS2)*. Molekul ini diperkirakan bertindak bersama dengan radikal superoksida dalam asam phagosomes untuk menghasilkan produk-produk beracun yang mampu membatasi kelangsungan hidup dan pertumbuhan *M. tb* (Andrea M., 2000).

Beberapa faktor host yang memegang peran utama dalam menetapkan risiko TB Aktif, diantaranya produksi *interferon- γ* dalam pengendalian infeksi interseluler *M.tb*. Sebagai tambahan *interferon - γ*

menyebabkan apoptosis makrofag yang terinfeksi mikobakterium pada *Nitric oxide (NO) dependent environment*

Peran *Nitric Oxide (NO)* sebagai suatu radikal bebas dan *second messenger* telah terlibat dalam perkembangan berbagai penyakit., termasuk TB. NO dihasilkan oleh *NOS2A* memegang peran utama dalam *pulmonary host-defence mechanism* dan terlibat dalam proses bakteriostatik dan juga proses bakterisidal. NO sangat vital untuk fungsi makrofag dan pembentukan granuloma pada respon imun dan mematikan *M. tb* secara *in vitro*.. Produksi NO dan ekspresi *NOS2* pada makrofag alveolar adalah *Upregulation* dalam respon *heat-killed M. tb* (Christina et al,2013)

Keterlibatan *NOS2A* SNPs telah diteliti dalam berbagai studi patologi yang berbeda dan hasilnya masih kontroversial. Penilaian terhadap kadar radikal NO dan membandingkan dengan *NOS2A-95-4G/C* SNP dan kombinasi factor lingkungan genotype dari *IFNG +874T/A* SNP/*NOS2A-954G/C* SNP pada pasien TB dan kontrol , sekresi Nitrit dan radikal NO_x^- telah dianalisa . Tidak ada hubungan antara TB dan grup kontrol atau antara profil *genotype* yang berbeda atau *genotype* kombinasi mengenai produksi Nitrit dan NO . .

Peran NO dalam pertahanan inang terhadap TB masih kontroversial, meskipun beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa NO memegang peran penting dalam mengontrol penyakit..Peningkatan ekspresi protein *NOS2* dalam makrofag alveolar penderita TB telah ditunjukkan..Lebih lanjut, diperlihatkan bahwa *NOS2A* adalah katalitik aktif

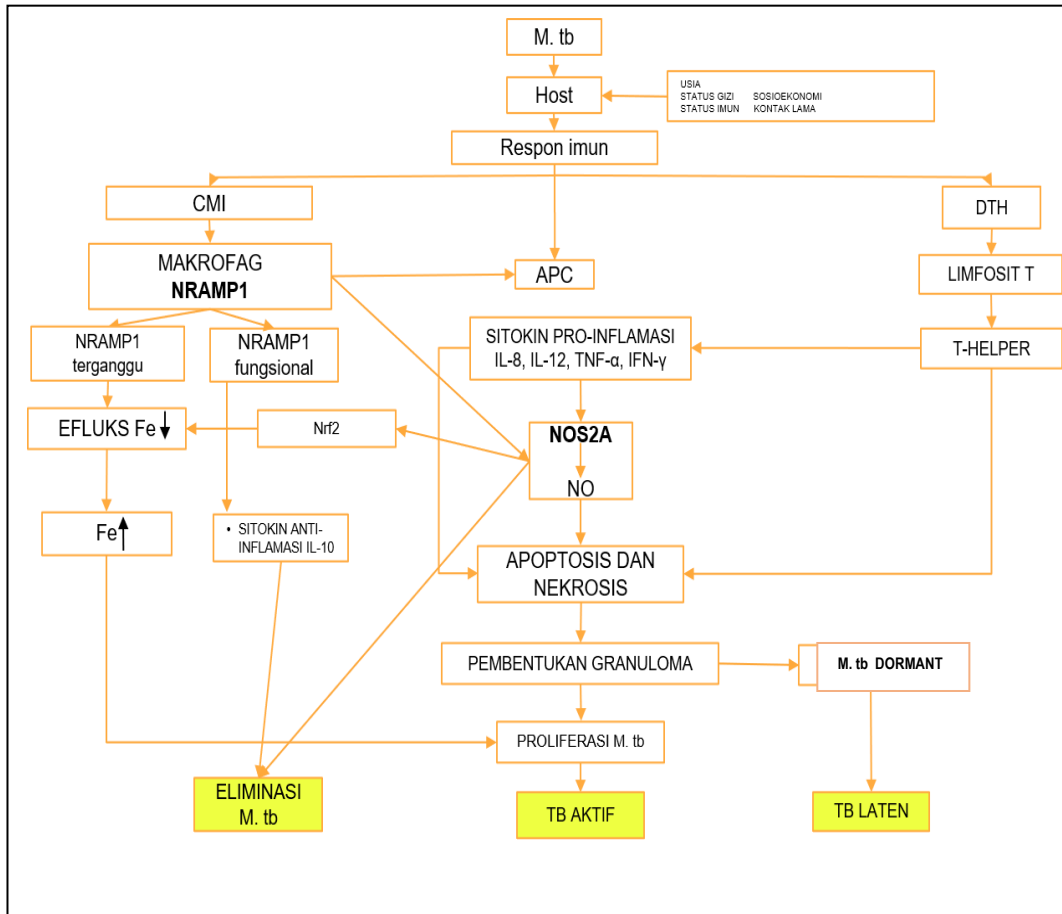
yang menunjukkan produksi NO tinggi pada makrofag yang terinfeksi TB.(Nicholson,et al,1996)

Tuberkulosis adalah penyakit yang multifaktorial yang melibatkan respon imun dan interaksi bacillus pada latar belakang genetik yang berbeda harus ditangani untuk menjawab apakah pertumbuhan kuman M. tb dikendalikan oleh interaksi kandidat gen dan atau beberapa faktor risiko .

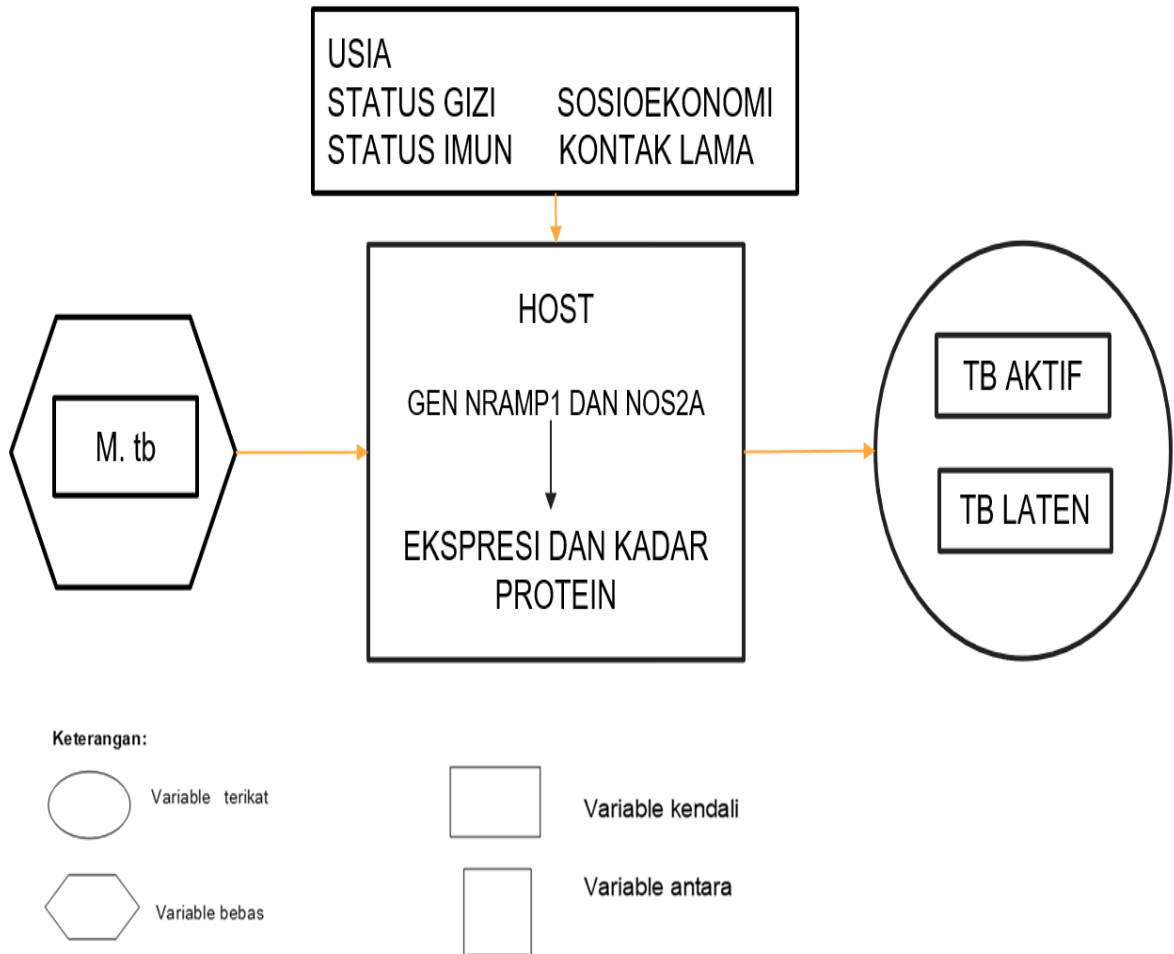
Sitokin seperti TNF- α , IL - 1β beserta IFN- γ yang dihasilkan oleh sel T dapat merangsang NO melalui aksi *NOS2A*. Hal ini menunjukkan bahwa NO yang dihasilkan oleh makrofag manusia yang terinfeksi TB dan oleh sel epitel adalah antimikobakterial terhadap M. tb. Makrofag alveolar dari paru –paru pasien mengekspresikan *NOS2A* yang berpotensi mikrobakterisidal dalam jumlah tertentu yang dapat membunuh mikobakterium.

Meskipun ekspresi *NOS2* biasanya tidak terdeteksi pada makrofag manusia dari *cell line* atau makrofag yang diturunkan secara in vitro dari monosit darah manusia yang sehat, makrofag alveolar dan jaringan dari paru-paru pasien TB menunjukkan tingkat fungsional *NOS2* yang tinggi. Polimorfisme dalam gen sintase nitrit oksida yang diinduksi berhubungan dengan tuberkulosis. Selain itu, jaringan paru yang terinfeksi dari pasien TB menunjukkan tingkat nitrotyrosine yang tinggi, produk aktivitas NOS, serta peningkatan aktivitas *NOS2*. (Choi et al,2002)

KERANGKA TEORI



KERANGKA KONSEP



BAB III. METODE PENELITIAN

DISAIN PENELITIAN