

**ANALISIS EKSPRESI mRNA GEN T REGULATOR, KADAR  
PROTEIN T REGULATOR, CD4 DAN CD8 PADA TB ANAK  
DENGAN SCAR**

**FARSIDA  
C013171016**



**PEMBIMBING:  
Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)**

**PROGRAM DOKTOR PASCA SARJANA ILMU KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN MAKASAR  
2020**

**DISERTASI**

**ANALISIS EKSPRESI mRNA GEN T REGULATOR, KADAR PROTEIN T REGULATOR, CD4 DAN CD8 PADA TB ANAK DENGAN SCAR**

Disusun dan diajukan oleh

**Farsida**  
**C013171016**

*Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal, 20 Januari 2021 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan*

Menyetujui  
Promotor,

**Prof. dr. Mochamma Hatta, Ph.D.Sp.MK(K)**  
Nip.19570416198503 1 001

Co. Promotor

**Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi, M.Kes**  
Nip. 19580128198903 1 002

Co. Promotor

**Dr. dr. Prihantono, Sp.B.Onk(K)**  
Nip. 19740629200812 1 001

Ketua Program Studi S3  
Ilmu Kedokteran,

**dr. Agus Salim Bukhari, M. Med, Ph.D, Sp.GK (K)**  
Nip. 19700821 199903 1 001

Dekan Fakultas Kedokteran  
Universitas Hasanuddin,

**Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed**  
Nip. 19661213 199503 1 009

**ABSTRACT**

**FARSIDA.** *The Correlation of Foxp3+ Gene and Regulatory T Cells with Scar BCG Formation among Children with Tuberculosis* (Supervised by **Mochammad Hatta, Ilhamjaya Patellongi, and Prihantono**)

The aim of this study is to control and treat tuberculosis infection that causes complex immunological responses, where the interaction between the pathogen and its host is unique. Studies suggesting the association of BCG scar with decreased childhood mortality in developing countries have rekindled the interest in BCG scar. However, the direct effect of the BCG remains unknown. According to WHO, an estimated 1 million children become ill with TB, and 233.000 children die of TB in 2017. Bacillus Calmette-Guerin (BCG) vaccines continue to be the only vaccines to prevent Tuberculosis (TB).

We examined 78 cases in this study, All subjects were diagnosed with Tuberculosis. BCG scars were examined directly when physical examination at the BCG vaccination site was performed. Tuberculin Skin Test was performed with 0.1 ml purified protein devirative (PPD) solution (5TU PPD/0.1 ml) injected intradermally. We examined the FOXP3 gene with real time PCR and the level of Treg with ELISA.

The results show that the comparison of the mean Treg gene expression and the Treg protein content is higher in the positive scar group than in the negative scar group. It shows that Treg plays a role in the Tuberculosis during its active phase development. Treg protein levels are higher in the combination of positive TST and scan. It shows that BCG scarring is an essential marker of a well-functioning immune system. Cheap and straightforward initiatives like early BCG vaccinations, monitoring BCG scarring, and revaccinating scarnegative children could have an enormous immediate impact on global child survival.

**Keywords:** Tuberculosis, FOXP3, TREG



**ABSTRAK**

**FARSIDA.** *Hubungan Gen Foxp3 + dan Sel T. Regulatori dengan Bekas Luka Pembentukan BCG pada Anak Tuberkulosis* (dibimbing oleh Mochammad Hatta, Ilhamjaya Patellongi, dan Prihantono).

Penelitian ini bertujuan mengendalikan dan mengobati infeksi tuberkulosis yang menyebabkan respon imunologi yang kompleks berupa interaksi antara patogen dan inangnya bersifat unik.

Sebanyak 76 kasus dalam penelitian ini diperiksa. Semua subjek didiagnosis dengan tuberkulosis. Bekas luka BCG langsung diperiksa saat dilakukan pemeriksaan fisik di tempat vaksinasi BCG. Tes kulit tuberkulin dilakukan dengan 0,1 ml larutan turunan protein murni (PPD) (5TU PPD/0,1 ml) yang disuntikkan secara intradermal. Gen FOXP3 diperiksa dengan PCR *real-time* dan level treg dengan metode ELISA.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbandingan ekspresi gen treg rata-rata dan kandungan protein treg lebih tinggi pada kelompok parut positif dibandingkan pada kelompok parut negatif. Hal tersebut menunjukkan bahwa treg berperan dalam penyakit tuberkulosis selama fase perkembangan aktifnya. Kadar protein treg lebih tinggi pada kombinasi TST positif dan bekas luka. Hal ini menunjukkan bahwa jaringan parut BCG adalah penanda penting dari sistem kekebalan yang berfungsi dengan baik. Inisiatif yang murah dan mudah seperti: vaksinasi BCG dini, pemantauan jaringan parut BCG, dan vaksinasi ulang terhadap anak skarnegatif dapat memberikan dampak langsung yang sangat besar pada kelangsungan hidup anak secara global.

Kata kunci: tuberkulosis, BCG scar, FOXP3, TREG





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

### PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Farsida  
NIM : C013171016  
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran  
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

**Analisis Ekspresi mRNA Gen T Regulator, Kadar Protein T Regulator, CD4 dan CD8 pada TB Anak dengan Scar**

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa Disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 25 Januari 2021

Yang menyatakan,



Farsida

## **PANITIA PENILAI UJIAN PRA PROMOSI**

**Promotor** : Prof. dr. Mochammad Hatta, PhD, SpMK(K)  
**Kopromotor** : Dr. dr. Ilham patellongi, M.Kes  
**Kopromotor** : Dr. dr. Prihantoro Sp.B.Onk(K)  
**Penguji Eksternal** : Prof. Dr. dr. Ni Made Mertaniasih, MS, Sp.MK(K)

**Penilai** : Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS  
Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, Sp.Biok  
Prof. dr. Muhammad Nasrum Massi, PhD  
Dr.dr. Firdaus Hamid, Ph.D  
Dr. dr. Andi Dwi Bahagia, Ph.D, Sp.A(K)

## DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL DEPAN.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN .....	ii
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR GRAFIK .....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	7
1.3. Tujuan Penelitian .....	7
1.3.1. Tujuan umum:.....	7
1.3.2. Tujuan khusus: .....	8
1.4. Pertanyaan penelitian .....	8
1.5. Manfaat Penelitian .....	8
1.5.1. Aspek pengembangan ilmu .....	8
1.5.2. Manfaat praktis .....	9
1.6. Ruang Lingkup Penelitian.....	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1. TB Anak.....	10
2.1.1. Epidemiologi .....	10
2.1.2. Patogenesis.....	10
2.1.3. Gejala Tuberkulosis Pada Anak .....	13
2.1.3. Pemeriksaan untuk diagnosis TB anak .....	14
2.1.3.1. Pemeriksaan bakteriologis .....	14
2.1.3.2. Pemeriksaan Penunjang .....	14
2.1.4. Alur diagnosis TB anak.....	18
2.1.5. Tatalaksana TB anak.....	22
2.2. Vaksin <i>Bacillus Calmette Guerin</i> .....	23
2.3. Status Gizi .....	26
2.4. Riwayat Kontak.....	28
2.5. Sistem Imun.....	29
2.5.1. Respon imun terhadap infeksi M.tb .....	30
2.5.1.1. Respon imune innate .....	30
2.5.1.2. Respon Imune Adaptif Pada M.tb.....	34
2.5.2. Respon Imune terhadap vaksinasi BCG .....	37
2.5.2.1. Respon Imune innate terhadap vaksinasi BCG.....	37
2.5.2.2. Respons Imun Adaptif Terhadap Vaksinasi BCG.....	38
2.5.2.2.1. Sel T CD4 .....	40
2.5.2.2.4. Sel T CD1-Restricted .....	49
2.5.2.2.5. Sel T multifungsi .....	50
2.5.3. Respon Imunitas Humoral .....	52
2.6. Pembentukan scar.....	52
BAB III KERANGKA TEORI.....	56
BAB IV KERANGKA KONSEP.....	57
Hipotesis Penelitian.....	57

BAB V .....	59
METODE PENELITIAN.....	59
5.1.  Desain Penelitian.....	59
5.2.  Populasi.....	59
5.2.1.  Populasi target.....	59
5.2.2.  Populasi terjangkau .....	59
5.3.  Tempat dan Waktu .....	59
5.4.  Sampel Penelitian.....	60
5.4.1.  Teknik sampling.....	60
5.4.2.  Besarnya sampel.....	60
Penentuan besar sampel yang akan dihitung menggunakan rumus Komparatif Numerik Tidak Berpasangan Dua Kelompok Satu Kali Pengukuran ( Dahlan Ms.2016) (43) :.....	60
5.5.  Kriteria sampel.....	61
5.5.1.  Kriteria inklusi .....	61
5.5.2.  Kriteria eksklusi .....	62
5.6.  Pengumpulan Data.....	62
5.7.  Persiapan Alat dan Bahan .....	63
5.8.  Metode Pemeriksaan.....	66
5.8.1.  Ekstraksi asam nukleat.....	66
5.8.2.  Eksresi mRNA gen Treg dengan metode <i>real time</i> <i>Polymerase Chain Reaction</i> (RT PCR).....	67
5.8.3.  Perhitungan Kurva kalibrasi dengan Ct(Cycle threshold). ..	68
5.8.4.  Cara kerja <i>Enzyme linked Immunosorbent Assay</i> (ELISA). ..	70
5.9.  Analisis Data.....	72
5.10.  Etika Penelitian.....	72
5.11.  Alur penelitian.....	74
5.12.  Definisi Operasional dan kriteria objektif .....	74
BAB VI HASIL DAN PEMBAHASAN.....	78
6.1.  HASIL .....	78
6.2.  PEMBAHASAN.....	99
6.2.1.  Karakteristik berdasarkan usia .....	100
6.2.2.  Biomarker Berdasarkan Jenis Kelamin.....	102
6.2.3.  Biomarker Berdasarkan Riwayat Kontak.....	104
6.2.4.  Biomarker Berdasarkan Status Gizi .....	106
6.2.5.  Biomarker Berdasarkan Scar .....	107
6.3.  Keterbatasan Penelitian.....	116
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN .....	117
7.1.  KESIMPULAN .....	117
7.2.  SARAN .....	117
LAMPIRAN.....	128

## DAFTAR SINGKATAN

<i>Ab</i>	: <i>Antibodi</i>
<i>Ag</i>	: <i>Antigen</i>
APC	: <i>Antigen Presenting Cell</i>
AP	: <i>Anterior Posterior</i>
BB	: <i>Berat Badan</i>
BCG	: <i>Bacille Calmette-Guérin</i>
BTA	: <i>Basil Tahan Asam</i>
CD4	: <i>Cluster of differentiation 4</i>
CD8	: <i>Cluster of differentiation 8</i>
CDR	: <i>Case detection rate</i>
CMI	: <i>Cellular mediated immunity (imunitas selulose spesifik)</i>
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
DTP	: <i>Diphthery Pertusis Tetanus</i>
DAMPs	: <i>Damaged associated molecular patterns</i>
DC.	: <i>Dendritic Cell</i>
DC-SIGN	: <i>Specific intercellular adhesion molecule-grabbing nonintegrin</i>
DLN.	: <i>Draining Lymph Node</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
EpCAM	: <i>Epithelial Cell Adhesion Molecule</i>
EDTA	: <i>Ethylen Diamine Tetra Acetat</i>
EM	: <i>Environment mikrobakteri</i>
ELISA	: <i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
HIV	: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HPV	: <i>Human Papiloma Virus</i>
IDAI	: <i>Ikatan Dokter Anak Indonesia</i>
IFN	: <i>Interferon</i>
<i>Ig</i>	: <i>Imunoglobulin</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
IC.	: <i>Immune Complexes</i>
ICT	: <i>Immuno Chromatographic Test</i>
IFN.	: <i>Interferon</i>
IRF.	: <i>Interferon Regulatory Factor</i>
IGRA.	: <i>Interferon Gamma Release A</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
IMT	: <i>Index Massa Tubuh</i>
KDT	: <i>Kombinasi Dosis Tetap</i>
KGB	: <i>Kelenjar Getah bening</i>

<i>MDR</i>	: Multi Drug Resisten
MHC	: Mayor Histocompatibly Complek
MMR	: <i>Mump Morbili Rubella</i>
<i>mRNA</i>	: <i>Mesengger Ribo Nucleic Acid</i>
M.tb	:Mycobacterium Tuberkukolsis
NGT	: <i>Naso Gastric Tube</i>
<i>NK</i>	: <i>Natural Killer</i>
<i>NO</i>	: <i>Nitric Oxide</i>
OAT	: Obat anti Tuberkulosis
PAMPs	: <i>Pathogen-associated molecular patterns</i>
PRRs	: <i>Pattern recognition receptors</i>
PCR.	: Polymerase Chain Reaction
PIM.	: Phospatidil myositinotoksin
RT PCR	: <i>Real Time Polymerasi Chain Reaction</i>
RNA	: <i>Ribonucleic acid</i>
ROC	: Receifing operating characteristic
ROS	: Reactive Oxygen Species
TB	: Tuberkulosis
TCM	: Test Cepat Molekuler
TGF	: Transforming Growth Factor
Th	: T helper
TNF	: Tumor Nekrosis faktor
TST.	: Tuberculin Skin Test
TLR.	: <i>Toll Like Reseptor</i>
TNF	: Tumor necrosis Faktor
Treg	: T regulator
UNICEF	: United Nations Children's Fund
<i>PCR</i>	: <i>Polymerase Chain Reaction.</i>
<i>RT PCR</i>	: <i>Reverse transcription polymerase chain reaction</i>
<i>PPD</i>	: <i>Purified Protein derivative</i>
<i>WHO</i>	: <i>World Health Organization</i>



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. 1 Case Detection Rate (CDR) Menurut Provinsi 2019 .....	2
Gambar 1. 2 Proporsi Kasus TB Menurut Kelompok Umur Tahun 2019 ...	3
Gambar 2. 1 Bagan Patogenesis TB .....	12
Gambar 2. 2 Dasar Biologis Uji Tuberkulin dan Pemeriksaan Interferon Gamma .....	16
Gambar 2. 3 Alur Diagnosis TB Paru Anak.....	20
Gambar 2. 4 Sel Innate dan Adaptif.....	29
Gambar 2. 5 Respon imun innate dan respon imun adaptif.....	30
Gambar 2. 6 Pertahanan imun bawaan melawan Mtb .....	31
Gambar 2. 7 Respon imun pada Tuberkulosis aktif .....	32
Gambar 2. 8 Fagositosis mikroba di dalam sel. (A) Mikroba berikatan dengan reseptor fagositosis. (B) Membran sel fagosit membentuk fagosom (C) Mikroba di dalam fagosom dan berfusi dengan lisosom. (D) Mikroba dihancurkan oleh enzim lisosom , ROS, dan NO di dalam fagolisosom ( Abbas & Lickman, 2005).....	34
Gambar 2. 9 Respon imunitas seluler terhadap M.tb (31) .....	35
Gambar 2. 10 Peran penyajian antigen terkait MHC II dalam pengenalan mikroba oleh CD4 .....	42
Gambar 2. 11 Peran penyajian antigen terkait MHC I dalam pengenalan mikroba oleh CD8 .....	43
Gambar 4. 1 Kerangka Konsep.....	57
Gambar 5. 1 Alat Real Time PCR.....	68
Gambar 5. 2 Grafik amplifikasi real time PCR (39) .....	69
Gambar 5. 3 Mesin ELISA microplate reader .....	72

## DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Tabel Sistem Skoring TB anak.....	21
Tabel 2. 2 Obat Antituberkulosis Anak dan Dosisnya .....	22
Tabel 2. 3 Dosis OAT KDT pada Tb anak.....	23
Tabel 2. 4 . Grafik penilaian gizi lebih berdasarkan kelompok usia.....	27
Tabel 2. 5. Penentuan status gizi menurut kriteria Waterlow, WHO 2006, dan CDC 2000. ....	27
Tabel 6. 1 Deskriptive Statistik Variabel penelitian .....	78
Tabel 6. 2 Deskriptive Statistik Biomarker Variabel penelitian .....	79
Tabel 6. 3 Perbedaan nilai biomarker berdasarkan jenis kelamin.....	80
Tabel 6. 4 Perbedaan nilai biomarker berdasarkan kelompok usia.....	81
Tabel 6. 5 Perbedaan nilai biomarker berdasarkan status gizi .....	82
Tabel 6. 6 Perbedaan nilai biomarker berdasarkan riwayat kontak.....	83
Tabel 6. 7 Perbedaan nilai biomarker berdasarkan temuan Scar .....	84
Tabel 6. 8 Perbedaan nilai biomarker berdasarkan BCG positif dengan Scar negatif dan tanpa BCG .....	88
Tabel 6. 9 Perbedaan nilai biomarker berdasarkan derajat klinis .....	89
Tabel 6. 10 Karakteristik yang berhubungan dengan Derajat Klinis.....	93
Tabel 6. 11 Hasil uji korelasi antara biomarker .....	98

## DAFTAR GRAFIK

Grafik 6. 1 Eror Bar Kadar CD4 serum pada anak dengan Scar positif dan Scar negatif.....	85
Grafik 6. 2 Eror Bar Kadar CD8 serum pada anak dengan Scar positif dan Scar negatif.....	85
Grafik 6. 3 Eror Bar exp m RNA gen T reg pada anak dengan Scar positif dan Scar negatif.....	86
Grafik 6. 4 Eror Bar kadar T reg serum pada anak dengan Scar positif dan Scar negatif.....	87
Grafik 6. 5 Eror Bar Kadar CD4 serum pada anak dengan Derajat Klinis yang berat dan tidak berat .....	90
Grafik 6. 6 Eror Bar Kadar CD8 serum pada anak dengan Derajat Klinis yang berat dan tidak berat .....	91
Grafik 6. 7 Eror Bar exp mRNA gen T reg pada anak dengan Derajat Klinis yang berat dan tidak berat .....	92
Grafik 6. 8 Eror Bar kadar T reg serum pada anak dengan Derajat Klinis yang berat dan tidak berat .....	92
Grafik 6. 9 Eror Bar kadar CD4 serum pada penderita dengan Derajat Klinis yang berat dan tidak berat dari penderita yang ditemukan Scar. ...	95
Grafik 6. 10 Eror Bar exp mRNA gen T reg pada penderita dengan Derajat Klinis yang berat dan tidak berat dari penderita yang ditemukan Scar. ....	97
Grafik 6. 11 Eror Bar kadar gen T reg pada penderita dengan Derajat Klinis yang berat dan tidak berat dari penderita yang ditemukan Scar. ...	98

# BAB I

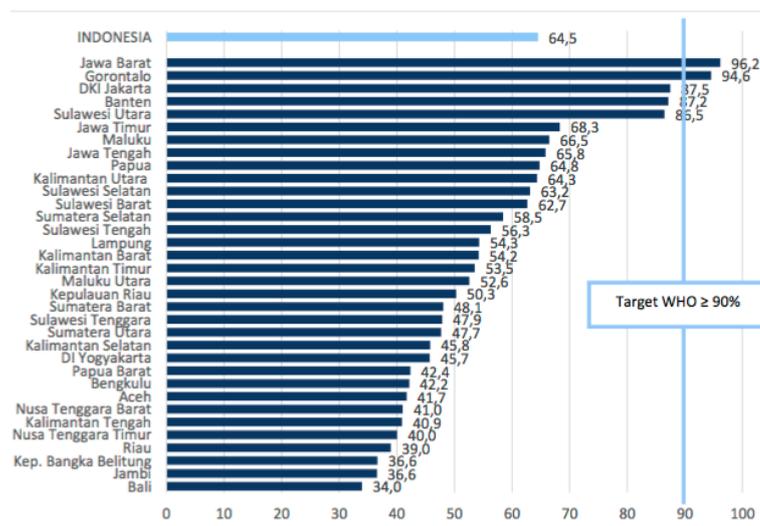
## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

*Mycobacterium tuberculosis (M.tb)* merupakan bakteri yang menyebabkan penyakit Tuberkulosis (TB). Ribuan tahun manusia telah terinfeksi *M.tb*. Infeksi ini menyebabkan respons imunologis yang kompleks, dimana terjadi interaksi antara *pathogen* dan *host* yang cukup unik. Penyakit ini sering terkena pada masyarakat yang berekonomi rendah sehingga memperburuk kondisi sosial dan perekonomian. Meskipun TB adalah penyakit menular yang dapat di obati, tapi masih berpengaruh tinggi pada angka kematian, secara global diperkirakan 10 juta orang sakit TB pada tahun 2018 (*World Health Organization, 2019*). Di perkirakan seperempat populasi dunia terinfeksi *M.tb* dalam keadaan laten, yang artinya dapat menyebabkan reservoir penyakit pada manusia sehingga meningkatkan angka morbiditas dan mortalitas TB (Moliva et al., 2017). *World Health Organization (WHO)* berkomitmen untuk mengahiri penyebaran TB pada tahun 2030, perlu adanya kerja sama yang dinamis, multisektoral secara global (*World Health Organization, 2017*).

Pada tahun 2018 kejadian tinggi berada Asia Tenggara (44%), Afrika (24%), Pasifik Barat (18%), Mediterania Timur (8%), Amerika (3%) dan Eropa (3%). Penyumbang dua pertiga dari total global kasus TB antara lain, India (27%), Cina (9%), Indonesia (8%), Filipina (6%), Pakistan (6%), Nigeria (4%), Bangladesh (4%) dan Afrika Selatan (3%). Indonesia berada

pada peringkat ke-3 setelah India dan Cina. Perkiraan beban TB di Indonesia pada tahun 2018 berdasarkan WHO sebanyak 316 per 100.000 penduduk (*World Health Organization, 2019*). Berdasarkan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, jumlah kasus TB di Indonesia pada tahun 2019 sebanyak 543.874 kasus. Dibandingkan dengan perempuan, jumlah kasus TB pada laki-laki lebih tinggi 1,4 kali yang terjadi di seluruh provinsi (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2019a).



Gambar 1. 1 Case Detection Rate (CDR) Menurut Provinsi 2019  
Sumber : Ditjen P2P , kemenkes RI 2020. Profil kesehatan Indonesia 2019

Case Detection Rate (CDR) adalah jumlah semua kasus TB yang diobati dan dilaporkan di antara perkiraan jumlah semua kasus baru TB. Gambar 1.1 menunjukkan bahwa CDR kasus TB di Indonesia tahun 2019 sebesar 64,5% yang relative meningkat jika dibandingkan dengan 10 tahun sebelumnya. Namun masih jauh dari angka CDR yang direkomendasikan oleh WHO sebesar  $\geq 90\%$ . Menurut provinsi, hanya Jawa Barat dan Gorontalo yang telah mencapai angka CDR  $\geq 90\%$  (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2019a).

TB dapat menyerang semua usia, Anak sangat rentan terinfeksi TB terutama yang kontak erat dengan Basil Tahan Asam (BTA) positif. Beban TB anak di dunia tidak diketahui karena kurangnya alat diagnostik yang ramah untuk anak dan tidak adekuatnya sistem pencatatan dan pelaporan kasus TB anak. Data dari Kemenkes lebih dari 1 juta kasus baru TB anak terjadi tiap tahun. Proporsi kasus TB anak diantara semua kasus yang diobati di Indonesia dari tahun 2010 sampai 2018 berkisar antara 9,4% sampai 11% (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2019b).



Gambar 1. 2 Proporsi Kasus TB Menurut Kelompok Umur Tahun 2019  
Sumber : Ditjen P2P , kemenkes RI 2020. Profil kesehatan Indonesia 2019

Untuk itu penanganan TB anak diperlukan gambaran epidemiologi TB pada orang dewasa karena kebanyakan anak mendapat TB penularan dari dewasa. Diagnostik pasti cukup sulit sehingga penanganan TB anak terabaikan karena tidak termasuk prioritas kesehatan masyarakat di banyak negara, termasuk Indonesia. Pencegahan dengan vaksinasi di harapkan mempunyai ketahanan tubuh yang lebih baik. Vaksin *Bacille Calmette-Guérin* (BCG) telah digunakan sejak tahun 1921. Meskipun khasiatnya

BCG masih tetap kontroversial, namun belum ada vaksin tandingan pengganti BCG (Luca & Mihaescu, 2013). Vaksin BCG ini telah diwajibkan di 64 negara dan direkomendasikan di beberapa negara lainnya (Briassoulis et al., 2005). WHO melaporkan sebanyak 100 juta vaksin BCG yang diberikan pada bayi selama tahun 2002 telah mencegah timbulnya meningitis TB anak sebanyak 30.000 kasus pada 5 tahun pertama kehidupannya dan telah mencegah timbulnya TB miliar sebanyak 11.000 (Martín Montañés & Gicquel, 2011).

Efektivitas buruk BCG untuk mencegah TB disebabkan oleh banyak faktor termasuk genetika manusia, paparan mikobakteri lingkungan (EM), infeksi koinfeksi dengan virus atau parasit, lokasi geografis, dan yang terpenting sosioekonomi dan faktor gizi. Studi klinis telah banyak dilakukan untuk membuktikan hal ini. Secara umum terungkap bahwa efektivitas BCG sangat bervariasi 0 - 80 % (Kumar, 2005). Vaksin yang ideal harus dapat meningkatkan imunitas protektif yang mampu menstimulasi dengan baik sel T limfosit dan sitokin-sitokinya serta memiliki potensi sebagai immunotherapeutik agent (Of et al, 2017). Pada Respons imun adaptif melalui sel T CD4 (CD4) dan sel T CD8 (CD8) yang dapat menghasilkan Interferon gamma (IFN- $\gamma$ ), Peningkatan produksi IFN- $\gamma$  oleh CD4 dan CD8 diharapkan dapat memberikan perlindungan pada saat pejamu terinfeksi (Of et al., 2017). Elemen kunci dalam pertahanan inang melawan M.tb adalah CD4 dan CD8, vaksinasi diharuskan memiliki kemampuan mengaktifkan sel T untuk menghasilkan sel memori. Vaksin BCG masih dianggap tidak dapat mencegah perkembangan TB dengan baik, masih

belum dapat dijelaskan secara tuntas, namun salah satu alasan utamanya adalah aktivitas imunostimulannya yang kurang maksimal, hal ini karena kurangnya kemampuan untuk menginduksi pematangan fagosom. Oleh karena itu, antigen yang muncul dari BCG tidak dapat sepenuhnya diproses di sel Ag-presenting (APCs) dan tidak dapat secara efisien dipresentasikan pada CD4 dan CD8, inilah yang dapat memberikan alasan kedepan bahwa usaha untuk perbaikan BCG dalam hal kemampuan untuk mengaktivasi sangat diperlukan dimasa mendatang (Mukai et al., 2014).

Pada umumnya setelah dilakukan vaksinasi BCG akan terbentuk scar yang menandakan vaksinasi BCG berhasil. Jika tidak terbentuk bisul, bukan berarti vaksin BCG tidak berhasil atau tidak terbentuk proteksi sehingga tidak perlu dilakukan pengulangan walaupun bisul atau scar tidak terbentuk (Ikatan Dokter Anak Indonesia , 2016). Terdapat hubungan antara pembentukan scar vaksin BCG dan kejadian infeksi TB. Pada hasil penelitian, orang yang tidak memiliki scar BCG lebih banyak pada pasien TB (Rosandali et al., 2016). Ada korelasi yang baik antara tidak adanya scar BCG dengan tidak adanya kekebalan terhadap TB, perlu dilakukannya vaksinasi ulang pada anak yang tidak terbentuk scar setelah vaksinasi BCG pertama, scar negative memiliki hubungan yang signifikan dengan *Tuberculin Skin Test* (TST) negative (Tabatabaei, 2019). Hubungan antara scar dan kepositipan TST sangat signifikan ( $p < 0.001$ ), ada korelasi signifikan antara ukuran scar dan ukuran TST (Dhanawade et al., 2015). Bayi yang tidak menunjukkan scar setelah vaksinasi, maka perlu pemantauan dan evaluasi pada tehnik penyuntikan, kualitas vaksin,

penyimpanan yang tidak tepat dan gangguan imunologis yang tidak terdiagnosis (Mbbs & Paeds, n.d.). Teknik vaksinasi dan strain vaksin BCG berhubungan dengan munculnya scar, dimana strain Rusia lebih cenderung tidak menimbulkan scar di banding strain Denmark. Scar merupakan indikator kinerja program vaksinasi di banding cakupan (Funch et al., 2018). Vaksin BCG terhadap TB diberikan secara intradermal, dan sering diikuti pembentukan scar di tempat suntikan dikaitkan dengan kematian yang lebih rendah (Birk et al., 2017). Vaksinasi BCG mungkin memiliki efek menguntungkan non spesifik pada kelangsungan hidup bayi dan tanda scar menunjukkan kematian yang lebih rendah pada anak. Jika BCG memiliki efek menguntungkan non-spesifik, maka perlu di rekomendasikan vaksinasi ulang anak-anak tanpa scar, terutama mengingat efek menguntungkan dari scar pada kelangsungan hidup tampaknya sampai usia dini (Roth et al., 2005).

Vaksin BCG yang disuntikkan kedalam tubuh bayi akan ditangkap oleh makrofag dan sel dendrit pada kulit dan selanjutnya dibawa ke nodus limfe regional untuk dipresentasikan kepada sel T. sel T yang terikat dengan basil BCG berdiferensiasi menjadi sel Th1 dan memproduksi sitokin IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , dan IL-2 untuk membunuh *M.bovis*. Sebagian sel-sel Th1 dan sitokin-sitokin tersebut akan menuju ke lokasi penyuntikan untuk membunuh *M. bovis*. Respon ini menghasilkan granuloma yang berakhir sebagai jaringan parut pada lokasi penyuntikan (Soares et al., 2008). Parut dapat digunakan sebagai penanda berakhirnya respon imunitas seluler terhadap vaksinasi BCG yang menghasilkan imunitas memori untuk

melawan *M.tb*(Faridi et al., 2009) . imunitas memori yang apabila dirangsang memberikan respon imunitas seluler. Respon imunitas seluler untuk melawan TB tergantung juga dari jumlah CD4 dan CD8 (Soares et al., 2010). Sub set lain dari CD4 yang juga berperan dalam melawan *M.tb* adalah sel T regulator (Treg) . Di negara-negara berkembang dengan kejadian TB yang cukup tinggi, imunisasi BCG di nilai kurang dalam melindungi TB paru-paru pada orang dewasa. Kejadian ini dimungkinkan karena adanya perubahan turunnya Treg yang dapat distimulasi oleh ME dan diperkuat dengan vaksinasi BCG. Treg yang diinduksi di lokasi vaksinasi BCG dapat mengganggu perlindungan terhadap TB. Ini menggambarkan kontribusi Treg terhadap peredam kemanjuran BCG dan pendekatan yang bisa diterima untuk melawan efek perubahan turunnya dari Treg ini (Parkash, 2015). Sampai saat ini masih minim penelitian yang mengevaluasi kadar CD4, CD8, Treg dan ekspresi Treg yang di kaitkan terbentuknya scar untuk membuktikan keberhasilan pembentukan respon imunitas setelah vaksinasi BCG.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Bagaimana ekspresi mRNA gen Treg, kadar protein Treg, CD4 dan CD8 pada TB anak dengan scar?

## **1.3. Tujuan Penelitian**

1.3.1. Tujuan umum:

Mengetahui hubungan respon imun adaptif dengan scar+ dan derajat klinis pada TB anak yang telah di vaksinasi BCG

#### 1.3.2. Tujuan khusus:

1. Menentukan ada perbedaan ekspresi mRNA gen Treg, kadar protein Treg, CD4 dan CD8 pada TB anak dengan Scar
2. Menentukan ada perbedaan ekspresi mRNA gen Treg, kadar protein Treg, CD4 dan CD8 pada TB anak berdasarkan derajat klinis
3. Menentukan ada korelasi ekspresi mRNA gen Treg, kadar protein Treg, CD4 dan CD8 pada TB anak

#### 1.4. Pertanyaan penelitian

1. Apakah ada perbedaan ekspresi mRNA gen Treg, kadar protein Treg, CD4 dan CD8 pada TB anak dengan Scar?
2. Apakah ada perbedaan ekspresi mRNA gen Treg, kadar protein Treg, CD4 dan CD8 pada TB anak berdasarkan derajat klinis?
3. Apakah ada korelasi ekspresi mRNA gen Treg, kadar protein Treg, CD4 dan CD8 pada TB anak?

#### 1.5. Manfaat Penelitian

##### 1.5.1. Aspek pengembangan ilmu

Peranan mRNA gen Treg, Kadar protein Treg, CD4, dan CD8 pada patogenesis TB anak yang sudah di vaksinasi BCG

### 1.5.2. Manfaat praktis

Membantu klinisi dalam menentukan derajat klinis dengan menggunakan parameter Treg, CD4 dan CD8

## 1.6. Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian dilakukan dari pasien di Rumah Sakit Islam Jakarta Cempaka Putih Jakarta Pusat, Rumah Sakit Islam Jakarta Sukapura Jakarta Utara dan Rumah Sakit Bhakti Medicare Sukabumi dilakukan oleh dokter spesialis anak melalui anamnesis, pemeriksaan fisik, diagnosis, pemeriksaan penunjang dan pengambilan sample darah. Untuk pemeriksaan ekspresi mRNA gen Treg, kadar protein Treg, CD4 dan CD8 dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler dan Imunologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar. Penelitian direncanakan dimulai Maret 2019 hingga besar sampel tercukupi.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. TB Anak**

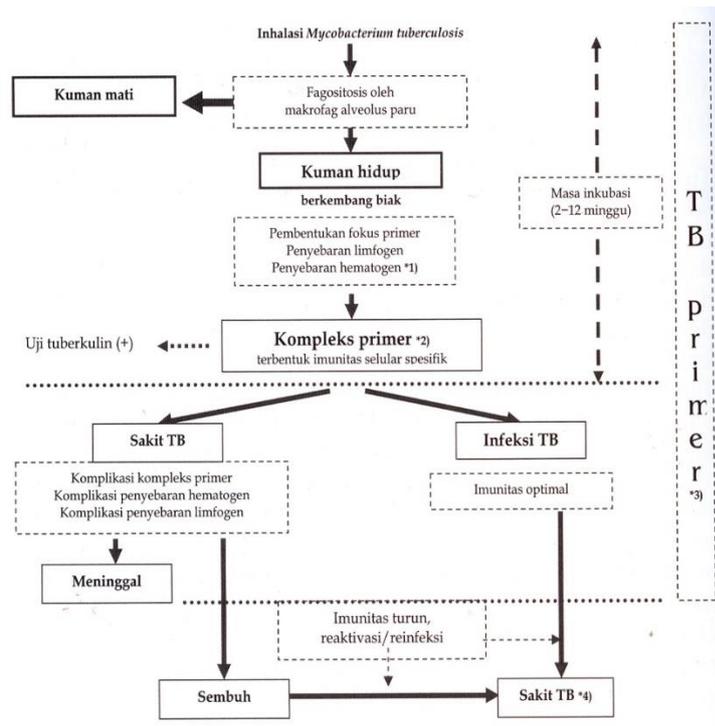
##### **2.1.1. Epidemiologi**

TB adalah penyakit menular yang disebabkan oleh kuman dari kelompok *Mycobacterium* yaitu *Mycobacterium tuberculosis (M.tb)*, yang dapat menyerang paru dan organ tubuh lainnya. TB pada anak berpotensi menimbulkan berbagai persoalan, mulai dari gagal tumbuh, kecacatan, bahkan kematian. Kategori untuk dapat dikatakan anak menurut United Nations Children's Fund (UNICEF) berada pada rentang usia 0-18 tahun (UNICEF, 2011). Pada negara berkembang anak berusia kurang dari 15 tahun adalah 40-50% dari jumlah seluruh populasi umum dan terdapat sekitar 500.000 anak di dunia menderita TB setiap tahun. Kasus TB anak di Indonesia pada tahun 2010 adalah 9,4%, 8,2% ditahun 2011, 7,9% ditahun 2013, 7,16% ditahun 2014 dan ditahun 2015 adalah 9%. Tingkat penularan pasien TB BTA positif 65%, TB BTA negative dengan kultur positif 26%, TB kultur negative dengan foto thoraks positif 17% (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2016).

##### **2.1.2. Patogenesis**

Paru merupakan port d'entrée lebih dari 98% kasus infeksi TB. Kuman TB dalam percikan kecil yang terhirup mempunyai ukuran yang sangat kecil sehingga dapat masuk sampai kedalam paru sampai ke

alveolus, kemudian respon imun non spesifik akan berperan dimana makrofag akan memfagosit bakteri dan menghancurkannya. Akan tetapi ada sebagian kecil dimana makrofag tidak mampu menghancurkan bakteri TB sehingga bakteri akan bereplikasi dan berkembang sehingga membentuk koloni di lokasi tersebut yang dikenal dengan Fokus Primer Ghon. Kemudian bakteri menyebar melalui saluran limfe menuju kelenjar limfe regional, Penyebaran ini menyebabkan terjadinya limfangitis dan limfadenitis yang terkena. Gabungan antara fokus primer, limfangitis, dan limfadenitis dinamakan kompleks primer. Waktu selama terjadinya proses kejadian ini disebut sebagai masa inkubasi. Masa inkubasi TB bervariasi selama 2–12 minggu, biasanya berlangsung selama 4–8 minggu. Selama masa inkubasi tersebut, kuman berkembang biak dengan jumlah yang cukup untuk merangsang respons imunitas selular sehingga imunitas terbentuk dengan ditandai adanya hipersensitivitas terhadap tuberkuloprotein, yaitu uji tuberkulin positif. Selama masa inkubasi, uji tuberkulin masih negatif. Kuman TB dapat tetap hidup dan menetap selama bertahun-tahun dalam kelenjar ini, tetapi tidak menimbulkan gejala sakit TB (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2016).



Gambar 2. 1 Bagan Patogenesis TB

Sumber : Petunjuk Teknis Manajemen dan Tatalaksana TB anak ,  
Kemenkes RI 2016

\*catatan :

1. Penyebaran kompleks hematogen umumnya terjadi secara sporadic (occult hematogenic spread). Kuman TB kemudian membuat fokus koloni diberbagai organ dengan vaskularisasi yang baik. Fokus ini berpotensi mengalami reaktivasi dikemudian hari.
2. Kompleks primer terdiri dari fokus primer (1), limfangitis (2), dan limfadenitis (3).
3. TB primer adalah proses masuknya kuman TB, terjadinya penyebaran hematogen, terbentuknya kompleks primer dan imunitas seluler spesifik, hingga pasien mengalami infeksi TB dan menjadi sakit TB primer.

4. Sakit TB pada keadaan ini disebut TB pascaprimmer karena mekanismenya bias melalui proses reaktivasi fokus lama TB (endogen) atau reinfeksi (infeksi sekunder dan seterusnya) oleh kuman TB dari luar (eksogen).

### **2.1.3. Gejala Tuberkulosis Pada Anak**

Gejala klinis pada anak dapat berupa sistemik atau sesuai organ terkait. Gejala umum seperti : batuk persisten, berat badan menurun, gagal tumbuh, demam lama, lesu dan tidak aktif. Adapun gejala khas TB yaitu menetap selama dua minggu walaupun sudah di berikan terapi adekuat. Gejala umum TB anak : Berat badan menurun, Demam lama ( $\geq 2$  minggu) dan atau berulang, Batuk lama  $\geq 3$  minggu, Lesu, nafsu makan menurun. Gejala klinis spesifik terkait organ tergantung jenis organ yang terkena: Tuberkulosis kelenjar, Tuberkulosis otak, Meningitis TB, Tuberkulosis sistem skeletal (spondylitis dengan penonjolan tulang belakang, koksitis pasien gangguan berjalan, gonitis berupa bengkak pada lutut tanpa sebab yang jelas, spina ventosa/daktilitis), Skrofuloderma, Tuberkulosis pada mata contohnya Konjungtivitis fliktenularis dan tuberkel koroid, Tuberkulosis organ-organ lainnya, misalnya peritonitis TB, TB ginjal dicurigai bila ditemukan gejala gangguan pada organ-organ tersebut tanpa sebab yang jelas dan disertai kecurigaan adanya infeksi TB (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2016).

### **2.1.3. Pemeriksaan untuk diagnosis TB anak**

#### **2.1.3.1. Pemeriksaan bakteriologis**

Sputum pada anak terutama dilakukan pada anak lebih dari 5 tahun. Cara mendapatkan sputum : berdahak, bilas lambung, induksi sputum. Beberapa pemeriksaan Bakteriologis untuk TB : Pemeriksaan mikroskopis BTA sputum atau specimen lain, Tes cepat molekuler dan Pemeriksaan biakan.

#### **2.1.3.2. Pemeriksaan Penunjang**

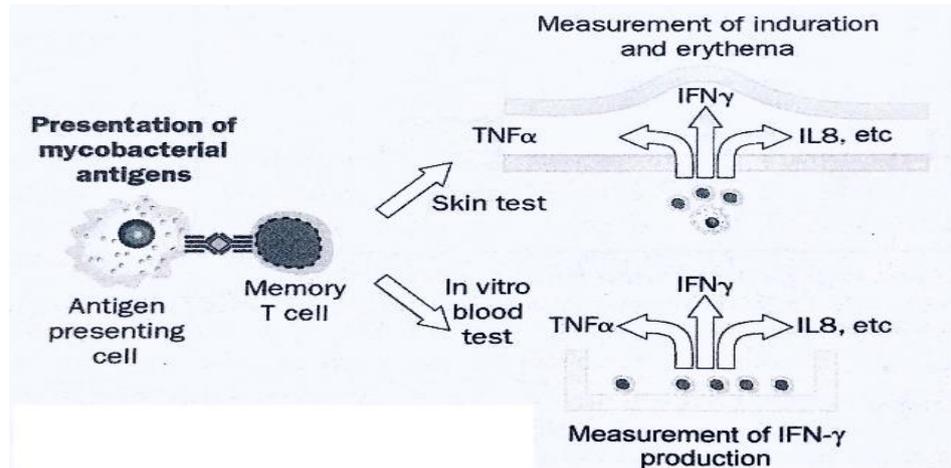
##### **a. Uji Tuberkulin**

Tuberkulin yang terdapat di Indonesia saat ini adalah PPD RT-23 2TU (*Tuberculin Unit*) dan PPD (*Purified Protein Derivative*). Uji tuberkulin dengan cara Mantoux dilakukan dengan cara menyuntikan 0,1 ml PPD RT-23 2TU atau PPD S 5TU secara intrakutan di volar lengan bawah. Pembacaan hasil dilakukan 48-72 jam setelahnya. Diameter indurasi  $\geq 10$  mm dapat dinyatakan positif, tetapi ada kemungkinan hal ini disebabkan oleh imunisasi BCG atau infeksi *Mycobacterium atipik*. Pengaruh BCG terhadap tuberkulin paling lama adalah 5 tahun setelah penyuntikan. Bila ukuran indurasi  $\geq 15$  mm kemungkinan besar hasil positif karena infeksi TB alamiah. ukuran 0-4 mm dinyatakan negatif. Diameter 5-9 mm meragukan. Untuk pasien dengan keadaan *immunocompromised* dan memiliki Riwayat kontak erat dengan pasien TB dewasa BTA (+), hasil tuberkulin dapat dinyatakan positif bila diameter indurasi  $\geq 5$  mm. Tes

Tuberkulin sebaiknya tidak dilakukan dalam 6 minggu setelah imunisasi morbili karena dapat terjadi anergi atau negative palsu akibat terganggunya reaksi terhadap tuberkulin. Pada keadaan sensitivitas yang tinggi terkadang akan timbul vesikel, bula, ulkus, limfadenopati regional, limfangitis, konjungtivitis fliktenularis, bahkan efusi pleura yang disertai demam. Anak yang tinggal di endemis TB perlu dilakukan uji tuberkulin secara rutin setiap tahunnya (Rahajoe et al., 2018).

#### **b. Uji Interferon**

Pemeriksaan respons imun terhadap infeksi terdiri dari pemeriksaan respons imun humoral (*Enzyme-linked Immunoabsorbent Assay, ELISA*) dan pemeriksaan respons imun selular. Pada infeksi TB respons imun selular lebih berperan sehingga uji tuberkulin lebih representatif. Pemeriksaan imunitas selular lebih praktis dengan pemeriksaan darah karena dapat membedakan infeksi TB dan sakit TB. Pemeriksaan yang dimaksud yaitu uji IGRA (*Interferon Gamma Release Assay, IGRA*). Pemeriksaan IGRA hanya membutuhkan satu kali kunjungan dan spesifisitasnya lebih tinggi karena tidak ada reaksi silang dengan vaksin BCG dan infeksi *M. atipik*. Tetapi kelemahan uji IGRA belum dapat dibuktikan hasilnya pada anak-anak (Rahajoe et al., 2018).



Gambar 2. 2 Dasar *Biologis Uji Tuberkulin dan Pemeriksaan Interferon Gamma*

Sumber: Rahajoe, N. N., Supriyatno, B. and Setyanto, D. B. (2018) *Respirologi Anak*. 4th edn. Jakarta: Ikatan Dokter Anak Indonesia.

### c. Radiologis

Foto toraks pada penyakit TB tidak menampilkan gambaran yang khas karena dapat ditemukan pada penyakit lain. Foto toraks pada TB tidak cukup hanya dibuat secara antero-posterior (AP), harus disertai dengan foto lateral juga karena pembesaran kelenjar getah bening (KGB) di daerah hilus akan terlihat lebih jelas pada foto lateral. Umumnya gambaran radiologis yang akan tampak pada sakit TB adalah sebagai berikut: Pembesaran kelenjar hilus/ paratrakeal dengan atau tanpa infiltrat, Konsolidasi segmental/lobar, Milier, Kalsifikasi dengan infiltrate, Atelektasis, Kavitas, Efusi Pleura, Tuberkuloma.

### d. Serologis

Beberapa pemeriksaan serologis yang ada untuk TB adalah PAP TB, Mycodot, *Immunochromatographic Test* (ICT), dan lain-lain. Bahan yang dapat digunakan pada test ini adalah darah, sputum, cairan bronkus,

cairan pleura, dan CSS. Tetapi pemeriksaan serologis umumnya masih dalam penelitian (Rahajoe et al., 2018).

#### **e. Mikrobiologis**

Terdapat dua macam pemeriksaan mikrobiologis yaitu apusan langsung (BTA) dan pemeriksaan biakan kuman *M.tb*. Tetapi terdapat kesulitan dalam melakukan pemeriksaan ini pada anak karena sulit mendapatkan sputum anak. Sebagai gantinya pemeriksaan bilas lambung/ *gastric lavage* dapat dilakukan dalam 3 hari berturut-turut (minimal 2 hari). Untuk hasil BTA pada anak biasanya negatif, sedangkan untuk pemeriksaan biakan *M.tb* memerlukan waktu yang lama yaitu 6-8 minggu. Terdapat pemeriksaan biakan yang lebih cepat (1-3 minggu) yaitu pemeriksaan Bactec, tetapi pemeriksaan ini membutuhkan biaya yang mahal dan teknologi yang tinggi.

Selain pemeriksaan yang telah dipaparkan diatas, terdapat pemeriksaan lain yaitu polymerase Chain reaction (PCR). Bahan yang digunakan pada pemeriksaan PCR adalah spesimen bilas lambung. *M.tb* dapat dideteksi walaupun hanya satu kuman. Tetapi seperti pemeriksaan Batec, pemeriksaan PCR juga membutuhkan biaya yang cukup mahal dan teknologi yang tinggi. Selain itu, terdapat kelemahan lain dari PCR yaitu tingginya variasi tingkat sensitivitas PCR di berbagai laboratorium, mudahnya terkontaminasi kuman/bagian kuman yang berasal dari pemeriksaan sebelumnya, hasil positif pada PCR TB ini dapat berarti

adanya kuman yang aktif ataupun dorman pada tubuh pasien, dan pemeriksaan ini masih diteliti lebih lanjut untuk pasien TB anak.

#### **f. Patologi Anatomi**

Pada pemeriksaan patologi anatomi pasien TB akan menunjukkan gambaran granuloma yang terbentuk dari agregasi sel epiteloid yang dikelilingi limfosit. Karakteristik dari TB pada pemeriksaan ini adalah adanya perkijuan atau area nekrosis kaseosa di tengah granuloma. Khas lainnya adalah terdapat *multinucleated giant cell* (sel datia Langhans). Diagnosis TB pada pemeriksaan ini dapat ditegakkan dengan menemukan perkijuan, sel epiteloid, sel datia Langhans, limfosit, dan terkadang dapat ditemukan pula BTA. Spesimen yang paling mudah diperiksa adalah limfadenopati kolli, kelenjar ini diambil secara utuh. Tetapi pada pemeriksaan patologi anatomi kelenjar limfe memiliki perancu yaitu infeksi *M. atipik* dan limfadenitis BCG. KGB kolli sering diambil dengan cara biopsi jarum halus, tetapi biopsi jarum halus ini kurang representatif.

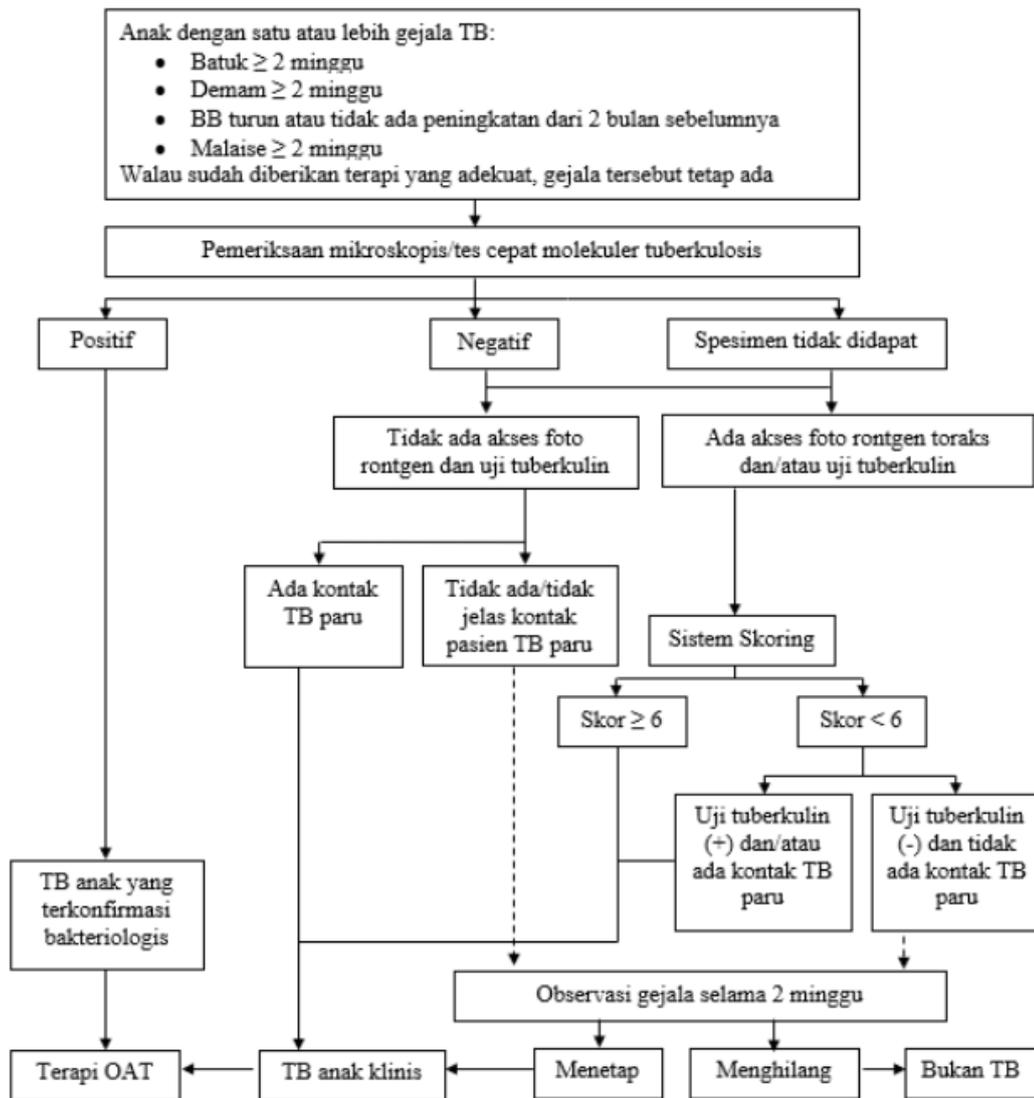
#### **2.1.4. Alur diagnosis TB anak**

Alur diagnosis TB digunakan untuk menegakan diagnosis TB anak yang bergejala. Langkah awal alur diagnosis TB adalah pengambilan dan pemeriksaan sputum, dan diagnosis pasti TB ditegakkan dengan ditemukannya kuman TB pada pemeriksaan sputum. Sputum yang representatif untuk dilakukan pemeriksaan mikroskopis adalah sputum

yang kental dan purulen, berwarna hijau kekuningan dengan volume 3-5 ml, dan ini tidak mudah diperoleh pada anak (Rahajoe et al., 2018).

Langkah awal pada alur diagnosis TB adalah pengambilan sputum :

1. Hasil pemeriksaan mikrobiologi (BTA/TCM) positif, anak didiagnosis TB dan diberikan Obat Anti Tuberkulosis (OAT).
2. Hasil pemeriksaan mikrobiologi (BTA/TCM) negatif atau spesimen tidak dapat diambil, lakukan pemeriksaan uji tuberkulin dan foto toraks
  - a. Tidak tersedia fasilitas untuk uji tuberkulin dan foto toraks :
    - Anak ada riwayat kontak erat dengan pasien TB menular, anak dapat didiagnosis TB dan diberikan OAT.
    - Tidak ada riwayat kontak, lakukan observasi klinis selama 2-4 minggu. Bila pada follow up gejala menetap, rujuk anak untuk pemeriksaan uji tuberkulin dan foto toraks.
  - b. Tersedia fasilitas untuk uji tuberkulin dan foto toraks, hitung skor total menggunakan sistem skoring :
    - Skor total  $\geq 6$  → diagnosis TB dan obati dengan OAT.
    - Skor total  $< 6$  dengan uji tuberkulin positif atau ada kontak erat → diagnosis TB dan obati dengan OAT.
    - Skor total  $< 6$  dan uji tuberkulin negatif atau tidak ada kontak erat → observasi gejala selama 2-4 minggu, bila menetap, evaluasi ulang kemungkinan diagnosis TB atau rujuk ke fasilitas pelayanan kesehatan yang lebih tinggi (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2016).



Gambar 2. 3 Alur Diagnosis TB Paru Anak  
Sumber: Petunjuk teknis manajemen dan tatalaksana TB pada anak,  
Kemenkes RI, 2016

Tabel 2. 1 Tabel Sistem Skoring TB anak

Parameter	0	1	2	3	Skor
Kontak TB	Tidak jelas	-	Laporan keluarga, BTA (-)/BTA tidak jelas/tidak tahu	BTA (+)	
Uji Tuberkulin	Negatif	BB/TB <90% atau BB/U <80% ≥2 minggu	-	Positif (≥10 mm atau ≥5 mm pada imunokompromais)	
Berat Badan/Keadaan Gizi	-	≥2 minggu	Klinis gizi buruk atau BB/TB <70% atau BB/U <60%	-	
Demam yang tidak diketahui penyebabnya	-	≥3 minggu		-	
Batuk kronik	-		-	-	
Pembesaran kelenjar limfe kolli, aksila, inguinal	-	≥1 cm, lebih dari 1 KGB, tidak nyeri	-	-	
Pembengkakan tulang/sendi panggul, lutut, falang	-	Ada pembengkakan	-	-	
Foto toraks	Normal/kelainan tidak jelas	Gambaran sugestif (mendukung) TB	-	-	
Total Skor =					

**Sumber: Kemenkes RI (2016) 'Petunjuk Teknis Manajemen dan Tatalaksana Tuberkulosis Anak'**

Parameter sistem skoring :

1. Kontak dengan pasien TB BTA positif diberikan skor 3 bila terdapat bukti tertulis hasil laboratorium BTA dari sumber penularan yang dapat diperoleh dari TB 01 atau dari hasil laboratorium.
2. Penentuan status gizi:

- a) Penilaian BB dan TB dilakukan saat pasien datang (*moment opname*).
- b) Dilakukan menggunakan parameter BB/TB atau BB/U. Penentuan status gizi anak usia  $\leq 6$  tahun menggunakan buku KIA Kemenkes 2016, sementara untuk anak usia  $> 6$  tahun menggunakan standar WHO 2005 yaitu grafik IMT/U.
- c) Jika BB kurang, berikan upaya perbaikan gizi dan evaluasi selama 1-2 bulan (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2016).

#### **2.1.5. Tatalaksana TB anak**

Pengobatan TB dibagi menjadi dua fase, yaitu fase intensif selama 2 bulan pertama dan fase lanjutan selama 4-10 bulan selanjutnya. Prinsip dasar pengobatan TB pada anak adalah minimal tiga macam obat pada fase intensif dan dilanjutkan dua macam obat pada fase lanjutan. Pemberian panduan obat ini bertujuan untuk mencegah terjadinya resistensi obat dan untuk membunuh kuman intraselular dan ekstraselular. Obat Anti Tuberkulosis (OAT) pada anak diberikan setiap hari yang bertujuan untuk mengurangi ketidakteraturan menelan obat yang lebih sering terjadi jika obat tidak ditelan setiap hari

Obat TB utama (*first line*) saat ini adalah Rifampisin (R), Isoniazid (H), Pirazinamid (Z), Etambutol (E), dan Streptomisin (S)

#### **Tabel 2. 2 Obat Antituberkulosis Anak dan Dosisnya**

<b>Nama Obat</b>	<b>Dosis harian (mg/kgBB/hari)</b>	<b>Dosis maksimal (mg/hari)</b>
Isoniazid (H)	10 (7-15)	300
Rifampisin (R)	15 (10-20)	600
Pirazinamid (Z)	35 (30-40)	-
Etambutol (E)	20 (15-25)	-
Streptomisin (S)	15-40	1000

Untuk mempermudah dan meningkatkan kepatuhan dalam meminum obat maka paduan OAT menyediakan bentuk paket Kombinasi Dosis Tetap (KDT/FDC). Paket ini dipakai untuk satu pasien dalam satu masa pengobatan. Paket KDT anak ini berisi obat fase intensif yaitu rifampisin 75 mg, INH 50 mg, dan pirazinamid 150 mg dan obat fase lanjutan yaitu rifampisin 75 mg dan INH 50 mg dalam satu paket (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2016).

**Tabel 2. 3 Dosis OAT KDT pada TB anak**

<b>BB (kg)</b>	<b>Fase intensif (2 bulan) RHZ (75/50/150)</b>	<b>Fase lanjutan (4 bulan) RH (75/50)</b>
5-7	1 tablet	1 tablet
8-11	2 tablet	2 tablet
12-16	3 tablet	3 tablet
17-22	4 tablet	4 tablet
23-30	5 tablet	5 tablet
>30	OAT dewasa	

**Sumber: Kemenkes RI (2016) 'Petunjuk Teknis Manajemen dan Tatalaksana Tuberkulosis Anak'**

## **2.2. Vaksin *Bacillus Calmette Guerin***

*Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) adalah vaksin tuberkulosis hidup yang dilemahkan yang memiliki kemampuan untuk menginduksi perlindungan silang non-spesifik terhadap patogen yang mungkin tidak terkait dengan penyakit. . Vaksinasi dengan BCG mengurangi mortalitas pada bayi baru lahir dan memicu peningkatan respon imun bawaan terhadap mikroorganisme selain *Mycobacterium tuberculosis* , seperti *Candida albicans* dan *Staphylococcus aureus*(Covián et al., 2019). Efektivitas proteksi vaksin BCG bervariasi antara 0 – 80%. Pola proteksi seperti ini menunjukkan bahwa vaksin ini masih mempunyai banyak kelemahan, dan dibutuhkan perbaikan segera, namun permasalahan utama adalah masih sedikitnya informasi tentang mekanisme proteksi terhadap tuberkulosis(Jia et al., 2017). Meskipun demikian, pada tahun 2018 BCG dipertimbangkan dalam program vaksinasi nasional di 154 negara, termasuk negara-negara di Amerika, Asia, Afrika, dan Eropa, dengan cakupan lebih dari 90% (World Health Organization, 2018). Di Guinea-Bissau, sebuah negara dengan angka kematian anak yang tinggi, adanya bekas luka vaksinasi BCG dikaitkan dengan penurunan angka kematian yang berhubungan dengan malaria atau demam yang tidak diklasifikasikan (Roth et al., 2005).

Penelitian pada tikus terlihat bahwa hewan coba yang mendapat vaksin BCG subkutan mempunyai kadar antibodi yang lebih tinggi terhadap PPD M.tb dibandingkan dengan vaksin yang diberikan secara oral ( $p < 0.05$ ). Pada penelitian ini juga ditemukan bahwa hampir tidak ditemukan

perubahan kadar antibodi antara hari ke-10 dan ke-20 setelah vaksinasi, baik secara oral maupun subkutan, jumlah sel Limfosit T terlihat lebih tinggi dibanding sel limfosit B, baik pada hari ke-10 maupun hari ke-20 ( $p < 0.05$ ) (Suharti & Putra, 2011). Pada penelitian yang dilakukan oleh Kaufmann terlihat bahwa adanya peningkatan aktivitas makrofag hari ke-20 dibanding hari ke-10 pada hewan coba yang mendapat vaksin BCG baik secara subkutan maupun oral, walaupun secara statistik peningkatan tersebut tidak berbeda secara bermakna dengan  $p > 0.05$  (Kaufmann, 2002). Secara keseluruhan dapat dilihat bahwa pemberian vaksin BCG secara subkutan terlihat lebih baik dibanding dengan pemberian per oral berdasarkan produksi antibodi, aktivitas limfosit B, aktivitas limfosit T dan kemampuan fagositosis makrofag. Fenomena ini pada dasarnya sedikit berbeda dengan teori imunitas mukosa yang dikembangkan oleh peneliti lain. Chen memperlihatkan induksi mukosa pada pemberian vaksin BCG akan memberikan efek proteksi yang lebih baik dibanding dengan pemberian secara subkutan (L. Chen et al., 2004).

Vaksinasi BCG tidak selalu menimbulkan scar, 20% bayi pasca vaksinasi BCG tidak menunjukkan scar, kemungkinan di sebabkan karena tehnik penyuntikan yang tidak tepat, kualitas vaksin, penyimpanan vaksin juga sebagai gangguan imunologis yang tidak terdiagnosis (Mbbs & Paeds, n.d.). Efek menguntungkan mungkin sebenarnya terkait dengan respon imun yang di induksi dengan benar saat di berikan vaksinasi BCG (Roth et al., 2005). Respon imun yang ditimbulkan setelah vaksinasi BCG pada bayi baru lahir melalui beberapa mekanisme berikut ini : suntikan BCG di lokasi

inokulasi oleh neutrofil, makrofag, dan DC, DC yang teraktivasi bermigrasi ke kelenjar getah bening untuk mengaktifkan sel imun adaptif, Aktivasi sel T CD4 + dan CD8 + spesifik Mycobacteria dengan profil Th1, mengeluarkan sejumlah besar IFN- $\gamma$  dan granzim, Aktivasi sel B mengarah pada pembangkitan memori dan sel plasma serta produksi antibodi antigen spesifik sebagai respons terhadap adanya antigen BCG. Setelah aktivasi, sel T dan B memori berada di kelenjar getah bening (Covián et al., 2019).

### **2.3. Status Gizi**

Salah satu faktor resiko terjangkitnya TB adalah status gizi. Bila status gizi pasien buruk dapat menyebabkan gangguan sistem kekebalan tubuh sehingga meningkatkan resiko terjangkitnya TB. Anak dengan gizi buruk akan mengakibatkan kekurusan, lemah dan rentan terserang infeksi TB. Hal ini dikarenakan sistem kekebalan tubuh yang berkurang pada anak. Status gizi yang buruk dapat memengaruhi tanggapan tubuh berupa pembentukan antibodi dan limfosit terhadap adanya kuman penyakit. Pembentukan ini memerlukan bahan baku protein dan karbohidrat, sehingga pada anak dengan gizi buruk produksi antibodi dan limfosit terhambat (Ren et al., 2019). Pada penelitian ditemukan bahwa pasien dengan gizi buruk mengalami keterlambatan pemulihan, disebabkan oleh karena rusaknya sistem imun oleh M.tb (Gupta et al., 2009). Penyakit TB juga dapat menyebabkan gizi buruk, kehilangan nafsu makan dan berakibat kehilangan berat badan atau indek masa tubuh (BMI) menurun, serta mengalami kelemahan pada pasien, semua ini dapat terjadi karena proses

perjalanan penyakit yang mempengaruhi sistem kekebalan tubuh pasien (Si et al., 2015).

Penentuan status gizi dilakukan berdasarkan berat badan (BB) menurut panjang badan (PB) atau tinggi badan (TB) (BB/PB atau BB/TB). Grafik pertumbuhan yang digunakan sebagai acuan ialah grafik WHO 2006 untuk anak kurang dari 5 tahun dan grafik CDC 2000 untuk anak lebih dari 5 tahun. Grafik WHO 2006 digunakan untuk usia 0-5 tahun karena mempunyai keunggulan metodologi dibandingkan CDC 2000. Subyek penelitian pada WHO 2006 berasal dari 5 benua dan mempunyai lingkungan yang mendukung untuk pertumbuhan optimal. Untuk usia di atas 5 tahun hingga 18 tahun digunakan grafik CDC 2000 dengan pertimbangan grafik WHO 2007 tidak memiliki grafik BB/TB dan data dari WHO 2007 merupakan *smoothing* NCHS 1981 (Ikatan Dokter Anak Indonesia (IDAI), 2011).

**Tabel 2. 4 . Grafik penilaian gizi lebih berdasarkan kelompok usia**

<b>Usia</b>	<b>Grafik yang digunakan</b>
0 – 5 tahun	WHO 2006 Untuk status gizi lebih dan obesitas lihat ketentu- an di bawah ini.
>5-18 tahun	CDC 2000

Penentuan status gizi menggunakan *cut off Z score* WHO 2006 untuk usia 0-5 tahun dan persentase berat badan ideal sesuai kriteria *Waterlow* untuk anak di atas 5 tahun.

**Tabel 2. 5. Penentuan status gizi menurut kriteria Waterlow, WHO 2006, dan CDC 2000**

<b>Status gizi BB/TB (% median) BB/TB WHO 2006</b>	<b>IMT CDC 2000</b>
----------------------------------------------------	---------------------

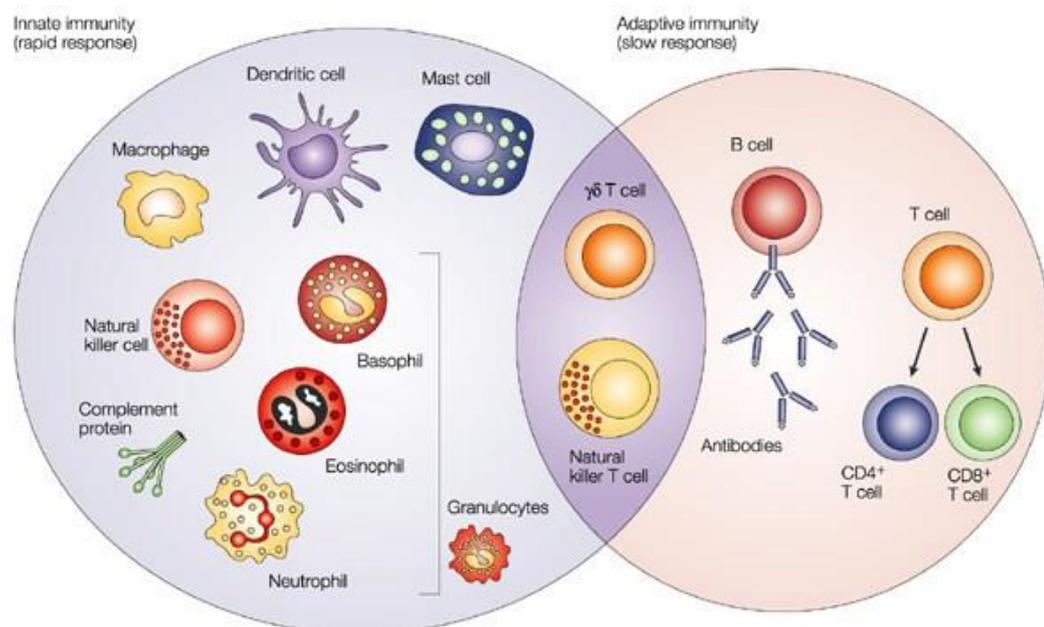
Obesitas	>120	> +3	> P <sub>95</sub>
<i>Overweight</i>	>110	> +2 hingga +3 SD	P <sub>85</sub> – p <sub>95</sub>
Normal	> 90	+2 SD hingga -2 SD	
Gizi kurang	70-90	<-2SD hingga -3SD	
Gizi buruk	< 70	< - 3 SD	

#### 2.4. Riwayat Kontak

Infeksi kuman TB dapat terjadi jika seseorang menghirup udara yang mengandung percik renik dahak orang yang terinfeksi TB. Beberapa faktor yang mempengaruhi penularan TB secara umum antara lain kedekatan kontak dengan sumber penularan, lamanya waktu kontak dengan sumber penularan dan konsentrasi kuman di udara (Pangaribuan et al., 2020). Seorang anak dengan TB paru biasanya tidak menginfeksi anak lainnya, dikarenakan basil TB pada tubuh anak tidak dapat dikeluarkan. Hal tersebut berbeda dengan orang dewasa yang terinfeksi TB paru yang dapat dengan mudah menginfeksi anak-anak saat batuk dan mengeluarkan percikan dahak. Anak yang pernah melakukan kontak dengan orang dewasa yang menderita TB BTA positif atau suspek TB yang diduga menjadi sumber penular memiliki risiko tertular penyakit TB yang lebih tinggi dibandingkan anak yang tidak mempunyai riwayat kontak. Investigasi kontak merupakan evaluasi sistematis penemuan dan penjarangan untuk mengidentifikasi status infeksi atau penyakit TB paru terhadap orang-orang yang diketahui memiliki kontak dengan pasien terdiagnosis. Hal ini merupakan salah satu dari strategi penemuan kasus TB paru aktif yang dianjurkan dalam meningkatkan penemuan kasus TB. Investigasi kontak telah menjadi standard baku praktik penanggulangan dan pencegahan TB di negara maju yang memiliki insidensi rendah (Asyary, 2015).

## 2.5. Sistem Imun

Sistem imun mendeteksi berbagai macam pengaruh biologis luar yang luas, organisme akan melindungi tubuh dari infeksi, bakteri, virus sampai parasit, serta menghancurkan zat-zat asing lain dan memusnahkan mereka dari sel organisme yang sehat dan jaringan agar tetap dapat berfungsi seperti biasa. Sistem pertahanan pada makhluk hidup ada 2 yaitu sistem pertahanan bawaan, *innate immunity* dan system pertahanan spesifik, *adaptive immunity*.



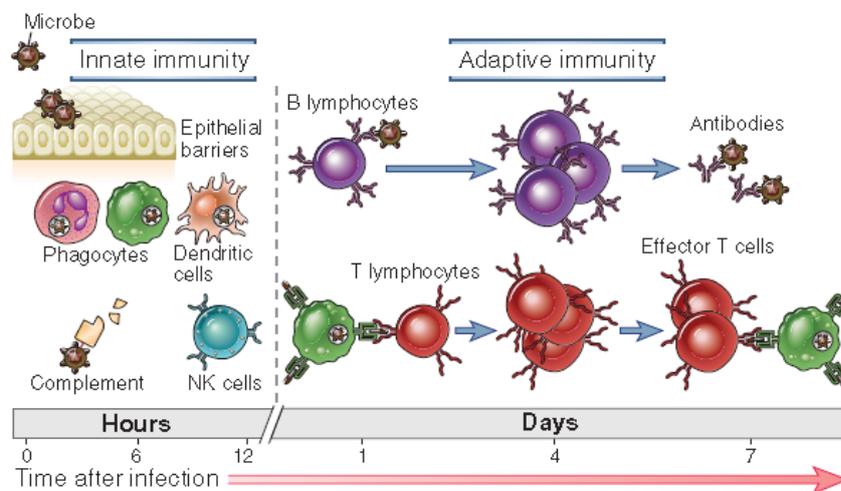
Nature Reviews | Cancer

Gambar 2. 4 Sel Innate dan Adaptip  
 Sumber: *cellular immunity*, Widodo Judarwanto, 2012 (34)

Imunitas bawaan tidak mengenali mikroba secara spesifik dan melawan semua mikroba dengan cara yang identik. Selain itu, imunitas bawaan tidak memiliki komponen memori sehingga tidak dapat mengenali kontak yang dulu pernah terjadi. Imunitas bawaan terdiri dari komponen lini

pertama, yaitu kulit dan membran mukus dan lini kedua yaitu substansi antimikroba, sel natural killer, dan fagosit.

Imunitas adaptif (spesifik) merupakan imunitas yang melibatkan mekanisme pengenalan spesifik dari patogen atau antigen ketika berkontak dengan sistem imun. Tidak seperti imunitas bawaan, imunitas adaptif memiliki respon yang lambat, tetapi memiliki komponen memori, sehingga dapat langsung mengenali kontak selanjutnya. Limfosit merupakan komponen dari imunitas adaptif.



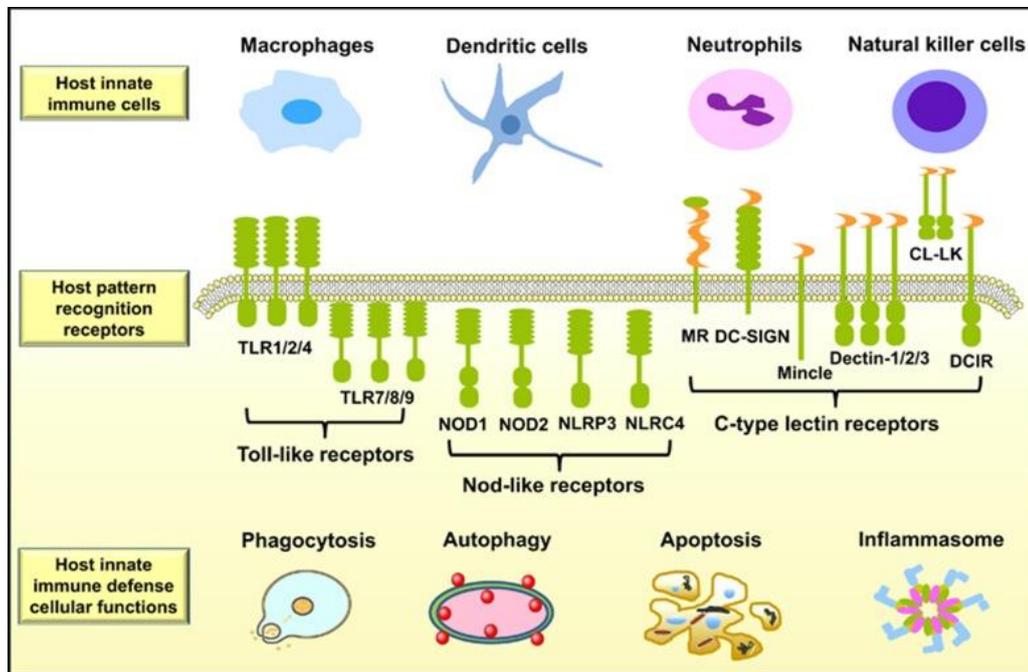
Gambar 2. 5 Respon imun innat dan respon imun adaptif  
 Sumber : Abbas, AK. Lichtman APS. Immunologi Dasar Abbas. 5th ed. singapura: Elsevier; 2016. 222-235 p(Abbas et al., 2016).

## 2.5.1. Respon imun terhadap infeksi M.tb

### 2.5.1.1. Respon imune innat

Respon awal terhadap TB diperankan oleh sistem mukosa. M.tb menginfeksi manusia terutama melalui mukosa saluran napas, Selain sebagai dinding penghalang terhadap invasi patogen, fungsi utama mukosa saluran napas adalah sebagai situs induksi, yaitu tempat awal dimulainya

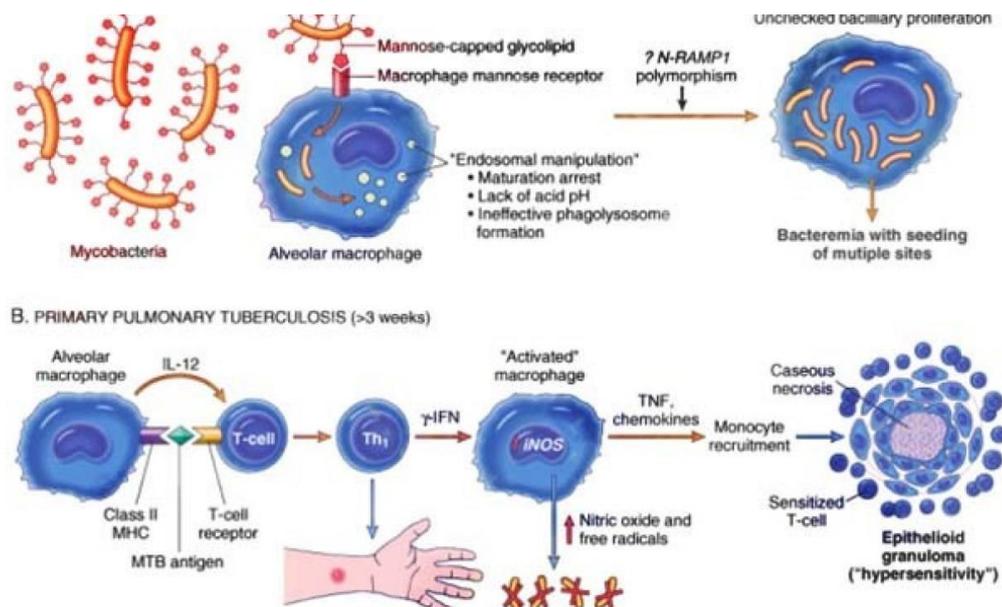
respons imun mukosa yang selanjutnya secara bertahap memberikan pertahanan lini pertama bagi host untuk mempertahankan diri dari pathogen (Li et al., 2012).



Gambar 2. 6 Pertahanan imun bawaan melawan Mtb  
Sumber : Cui Hua Liu et all, 2017 (Liu et al., 2017).

Tuberkulosis merupakan penyakit yang unik, respon seluler baru terdeteksi cukup lama setelah 2-12 minggu setelah infeksi. Langkah pertama dalam aktivasi immune bawaan selama infeksi M.tb di mulai dengan pengenalan pathogen. Selama fagositosis, PAMP yang berada di permukaan M.tb di kenali oleh PRR pada sel inang. Berbagai PRR telah terbukti mengenali PAMP M.tb. Sel imun bawaan selain memunculkan sitokin inflamasi dan produksi kemokin, juga memicu serangkaian kejadian seluler seperti fagositosis, autopagi, apoptosis dan aktivasi inflamasi untuk mengontrol dan menghilangkan pathogen yang menyerang dan meningkatkan presentasi antigen, sehingga berkontribusi pada induksi

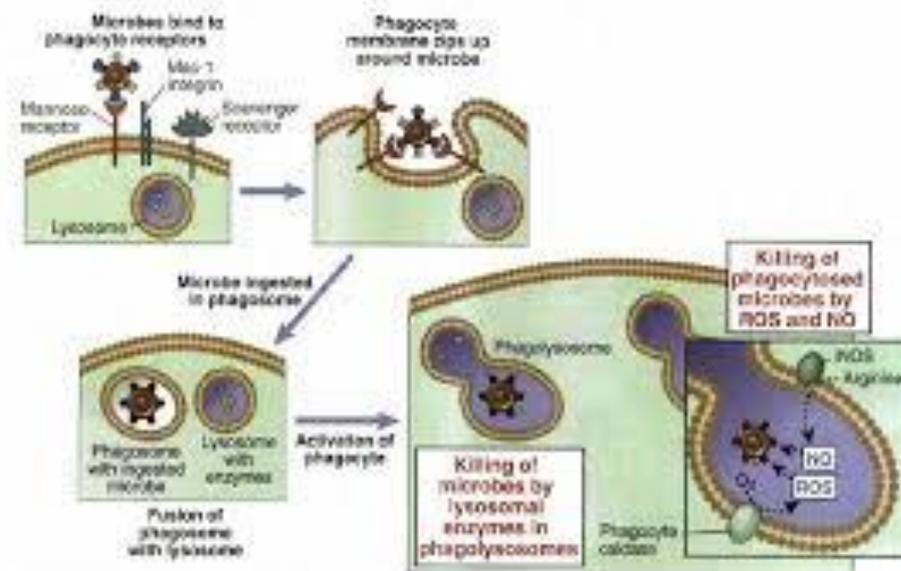
imunitas adaptif. Sebaliknya patogen intraseluler seperti *M.tb* juga berusaha untuk memainkan fungsi seluler host melalui beragam efektor yang menargetkan jalur dan kunci pensinyalan (Liu et al., 2017). Dalam keadaan bakteri tidak dapat dibunuh, selama interaksi ini bakteri akan berproliferasi dalam sel dendritik dan makrofag alveolar dengan cepat proses ini memproduksi IL 1- $\alpha$  , IL 1- $\beta$  dan sitokin proinflamasi. Makrofag mempunyai 3 fungsi utama yaitu (1) Memproduksi enzim proteolitik dan metabolit lainnya yang memperlihatkan efek *M.tb* (2) Memproduksi sitokin sebagai respon terhadap *M. tuberculosis* yakni IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$  TGF- $\beta$ . Sitokin mempunyai efek imunoregulator yang penting. (3) Memproses dan menyajikan anti gen terhadap limfosit T (Suharti & Putra, 2011).



Gambar 2. 7 Respon imun pada Tuberkulosis aktif

Sumber : Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Ed 8. Philadelphia: Saunders Elseviers; 2010 (Kumar, V et al., 2010).

Makrofag teraktifasi membunuh bakteri yang telah ditelan melalui beberapa mekanisme yang berbeda, termasuk di antaranya phagolysosome fusion, pembentukan reactive nitrogen intermediates, terutama nitric oxide (NO), dan pembentukan reactive oxygen species (ROS). Pada makrofag teraktifasi, fagosom yang telah menelan patogen, bergabung dengan lisosom yang selanjutnya membentuk fagosom matur dan membunuh pathogen tersebut dengan zat intralysosomal acidic hydrolases. Phagolysosome fusion ini merupakan mekanisme antimikroba yang penting untuk melawan patogen intraseluler, termasuk M.tb. Namun, M.tb dapat berevolusi dengan menciptakan mekanisme untuk menghambat pematangan fagosom, mencegahnya bergabung dengan lisosom, mengasamkan, dan mengekspos bakteri pada lisosom hidrolase. Oleh karena itu, penghambatan pembentukan autofagosom dapat menjadi salah satu mekanisme paling penting bagi Mtb untuk melarikan diri dari sistem imun host (Urdahl et al., 2011).

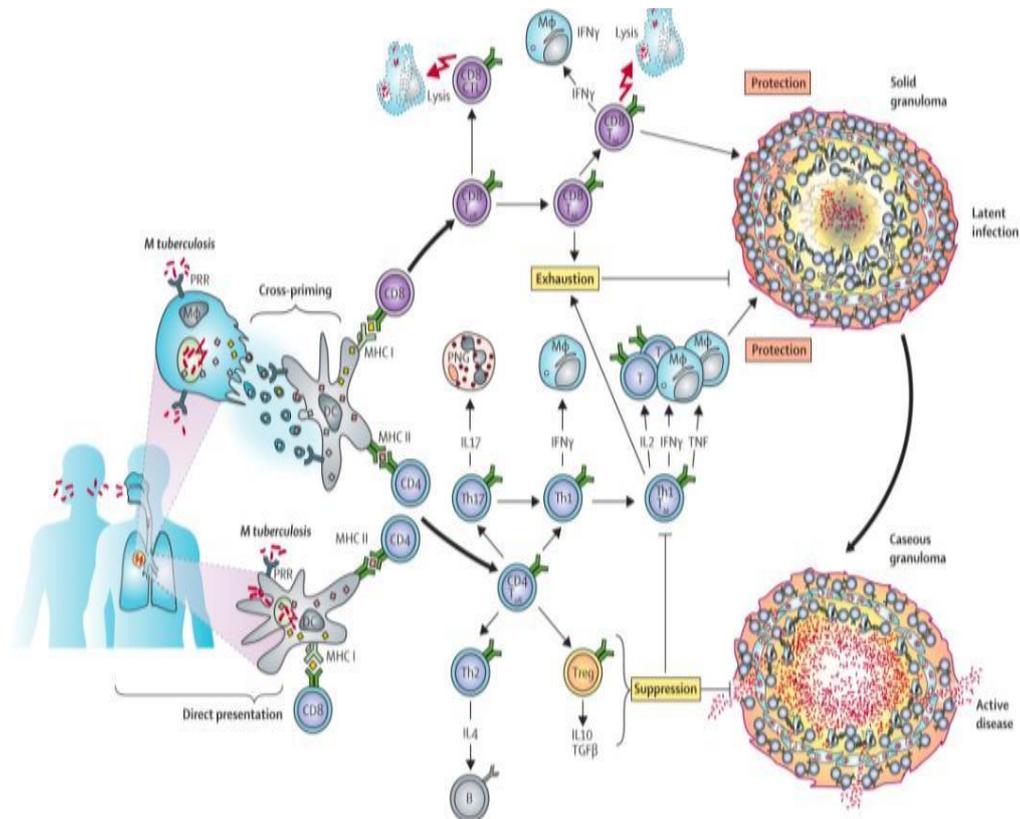


Gambar 2. 8 Fagositosis mikroba di dalam sel. (A) Mikroba berikatan dengan reseptor fagositosis. (B) Membran sel fagosit membentuk fagosom (C) Mikroba di dalam fagosom dan berfusi dengan lisosom. (D) Mikroba dihancurkan oleh enzim lisosom , ROS, dan NO di dalam fagolisosom ( Abbas & Lickman, 2005)

### 2.5.1.2. Respon Imune Adaptif Pada *M.tb*

Respon adaptif dimulai sekitar 3 minggu setelah bakteri masuk. Proses ini terjadi saat Antigen TB masuk kedalam saluran getah bening yang bertemu dengan Sel dendritik, Sel dendritik membawa mycobacterium ke limfonodus mediastinal sebagai antigen presenting cells (APCs) yang mengaktifkan sel T. Sebagai pathogen intraseluler, *Mtb* 'tinggal' di dalam vakuola makrofag dari *host*. CD4 dan CD8 adalah hal terpenting pada perlindungan *host* terhadap *M.tb*. Sel T CD4 terlibat dalam perlawanan utama terhadap *Mtb* dengan memproduksi IFN- $\gamma$  dan sitokin lain untuk mengaktifkan makrofag yang sangat penting dalam mengendalikan dan mengeliminasi *M.tb*. Hal ini dibuktikan dengan beberapa penelitian pada hewan coba yang menunjukkan aktivasi CD4 begitu terpajan bakteri *M.tb*. Yang menarik, beberapa penelitian

menunjukkan adanya *delay* pada respons CD4 begitu bakteri M.tb masuk ke dalam tubuh (Li et al., 2012).



Gambar 2. 9 Respon imunitas seluler terhadap M.tb (Kaufmann, 2002)

Onset dari sel imun adaptif pada TB diketahui memang lebih terlambat dibandingkan pada infeksi lainnya. Pada keadaan normal, sel T CD4 akan aktif 3-5 hari setelah infeksi awal, puncak aktivitas adalah 7-8 jam pascainfeksi. Penelitian pada hewan coba menunjukkan respons sel T yang muncul justru 9-11 hari pascainfeksi. Penyebab pastinya masih belum diketahui, namun hal ini seakan- akan memberikan waktu bagi bakteri untuk memastikan proses infeksi terjadi. Pendapat awal yang menjelaskan adanya *delay* pada respons imun adaptif terhadap TB adalah penemuan bahwa setelah infeksi melalui udara, bakteri hidup harus diantarkan menuju *lung draining* (juga disebut 'mediastinal', 'pulmonal' dan 'torakal') *lymph*

*node* (LDLN) sebelum proses *priming* sel T dapat muncul, sehingga membutuhkan waktu lebih lama. Faktor *host* juga diyakini berpengaruh pada respons sel T tersebut. Selain itu, terdapat pula pendapat yang menyatakan bahwa *M.tb* ini bersembunyi di tempat yang bersifat aman atau *immunoprivileged* pada fase awal infeksi (Urdahl et al., 2011).

CD8 adalah bagian lain dari sel T yang diperlukan untuk membersihkan patogen intra seluler pada mukosa. Tampaknya ada tiga fungsi efektor utama untuk CD8 terhadap TB dibandingkan dengan CD4 termasuk lisis sel yang terinfeksi dipermukaan mukosa (misalnya, makrofag dan DC), eliminasi langsung dari bakteri intraseluler, dan produksi sitokin IFN- $\gamma$ . Mirip dengan CD4, CD8 juga merupakan sumber penting dari IFN- $\gamma$  terhadap infeksi *M.tb*, meskipun produksinya relative kurang jika dibandingkan CD4. Pentingnya CD8 juga dibuktikan dengan munculnya sel CD8 spesifik antigen(Ag) *M.tb* dalam lumen saluran napas pada saat infeksi *Mtb* terjadi. Selain CD4 dan CD8, subset lain dari sel T seperti sel T  $\alpha\beta$  dan sel T  $\gamma\delta$  juga ditemukan berperan penting dalam imunitas mukosa terhadap *Mtb*. Misalnya, jumlah sel T $\gamma\delta$  ini berlimpah pada mukosa dan permukaan epitel; mereka mampu melisiskan makrofag terinfeksi dan menahan pertumbuhan *M.tb* (Li et al., 2012).

Treg diketahui juga penting untuk mempertahankan toleransi perifer dan homeostasis pada permukaan mukosa. Namun, peningkatan proses proliferasi dan aktivitas berlebihan dari Treg yang cenderung melemahkan imunitas anti-infeksi terhadap organisme. Treg dapat menekan CD4 dan CD8 dari proliferasi hingga diferensiasi menjadi Thelper. Treg juga

menginduksi apoptosis, menekan aktivasi sel B sehingga dapat menghambat respons imun humoral. Pada infeksi TB, peningkatan Treg menunjukkan adanya immunosupresi. Jumlah FoxP3 yang mengekspresi sel Treg meningkat dalam darah pasien TB dan menghambat memori sel T  $\gamma\delta$  untuk memproduksi IFN- $\gamma$  sebagai respons masuknya antigen M.tb. Treg juga memproduksi TGF- $\beta$  untuk menurunkan respons sel T CD4, dan menekan respons imun efektor, serta menginduksi penyebaran bakteri dan terjadinya penyakit (X. Chen et al., 2007; DHEDA et al., 2010).

## **2.5.2. Respon Imune terhadap vaksinasi BCG**

### **2.5.2.1. Respon Imune innate terhadap vaksinasi BCG**

Vaksin BCG sebagai model dari M.tb mengandung M.bovis yang memiliki struktur dinding sel yang hampir sama dengan dinding sel M.tb. Struktur dinding sel inilah yang mencetuskan respon imunitas pada manusia untuk melawan M.tb begitu juga pada M.bovis respon imunitas keduanya merangsang pembentukan granuloma, sebuah respon yang berperan penting untuk menghilangkan agen infeksius dari tubuh. Pada sistem imunitas bawaan, sel utama yang merespon BCG adalah monosit, makrofag, neutrophil, dan sel dendritik. Dimana masing masing sel memiliki respon terhadap vaksinasi BCG. Sel pertama yang merespon BCG adalah makrofag. Dari perspektif mikobakteri, kita berasumsi bahwa komponen dinding sel BCG akan berinteraksi dengan cara yang sama dengan reseptor makrofag seperti yang dilakukan komponen dinding sel M.tb. Namun, ada perbedaan, seperti dalam kasus mannose- capped lipoarabinomannan

(ManLAM) dari *M.tb* vs BCG. Derajat dan pola mannose capping dan kandungan asam lemak dalam *M.tb* ManLAM vs BCG ManLAM berbeda dan karenanya, dapat menentukan bagaimana molekul ini secara berbeda dikenali oleh reseptor makrofag yang selanjutnya menghasilkan respon imun yang berbeda dan dapat mempengaruhi presentasi antigen. Bakteri kemudian didegradasi *melalui* mekanisme pembunuhan intraseluler dan peptida ditampilkan ke membran plasma bersama dengan major histocompatibility complex (MHC) kelas I dan II di mana mereka disajikan ke sel-sel sistem kekebalan adaptif (Moliva et al., 2017). Salah satu antigen yang ada di dinding sel BCG sesuai dengan antigen (Ag) 85 (juga ada di *M.tb*), yang merangsang produksi tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ), interleukin 1-beta (IL- 1 $\beta$ ) dan IL-6 (Bertholet et al., 2008; Joosten et al., 2018). yang mampu menghasilkan keadaan pro-inflamasi yang mendorong aktivasi sel imun (Tsuji et al., 2000). Telah dilaporkan bahwa neutrofil manusia yang terinfeksi BCG bekerja sama dengan DC yang terinfeksi untuk merangsang respons sel T spesifik antigen (Morel et al., 2008).

#### **2.5.2.2. Respons Imun Adaptif Terhadap Vaksinasi BCG**

Perkembangan respon imun adaptif dimulai ketika sel penyaji antigen (APCs, misalnya, DC, makrofag dan sel B menghadirkan peptida antigenik pada molekul MHC dan sel T utama yang terletak di jaringan limfoid. DC kulit yang terinfeksi BCG bermigrasi ke kelenjar getah bening dan merangsang pengeluaran TNF-, IL-6, IL-12 dan sel CD4 dan CD8. Respon immune adaptif terhadap vaksinasi BCG di respon oleh : Sel B, sel

T Folikular B helper, sel T regulator, sel T CD1 restriksi, sel TCD8+, sel CD4+ T<sub>h1</sub>, Th<sub>2</sub>, Th<sub>17</sub>. Karena kemampuan M.tb untuk bertahan hidup intraseluler, respon imun adaptif seluler yang diperankan oleh sel T spesifik banyak dijadikan pertahanan terhadap TB(Moliva et al., 2017).

Vaksin merangsang proliferasi sel CD4+helper T (T<sub>h</sub>) dan CD8 sel T sitotoksik (T<sub>c</sub>). Sel T helper berdiferensiasi menjadi sel efektor yang berbeda selama respon imun, Sel Th<sub>1</sub> menghasilkan sel IFN $\gamma$ , Th<sub>17</sub> menghasilkan IL-17A, sel T<sub>h2</sub> menghasilkan IL-4. Subset sel lainnya seperti sel T regulator (T<sub>reg</sub>) dan sel T CD1-restricted juga muncul setelah vaksinasi BCG, walaupun pada tingkat yang lebih rendah. BCG juga menginduksi sel T sitotoksik, yang fungsinya untuk melindungi sel yang terinfeksi melalui gangguan osmotik. Jelas bahwa CD4 dan CD8, adalah sel T yang sangat penting untuk perlindungan terhadap infeksi M.tb. Saat memasuki kelenjar getah bening, sel dendritik merangsang sel CD4, CD8, sel T CD1 + restricted, sel T regulator, dan sel B. Sel CD4+ dan CD8+ T bermigrasi keluar dari kelenjar getah bening ke lokasi inokulasi dan memberikan stimulasi yang diperlukan pada sel bawaan. Sel T CD4 berdiferensiasi menjadi sel T<sub>h1</sub>, T<sub>h17</sub>, atau T<sub>h2</sub> tergantung pada rangsangan yang ada dan membantu pengaktifan makrofag, sedangkan sel CD8 memediasi fungsinya dengan melisis sel yang terinfeksi atau dengan mengeluarkannya sitokin. Sel B berdiferensiasi menjadi antibodi yang memproduksi sel plasma atau sel memori B. Sepanjang prosesnya, sel memori muncul ketika seseorang merespons infeksi(Moliva et al., 2017).

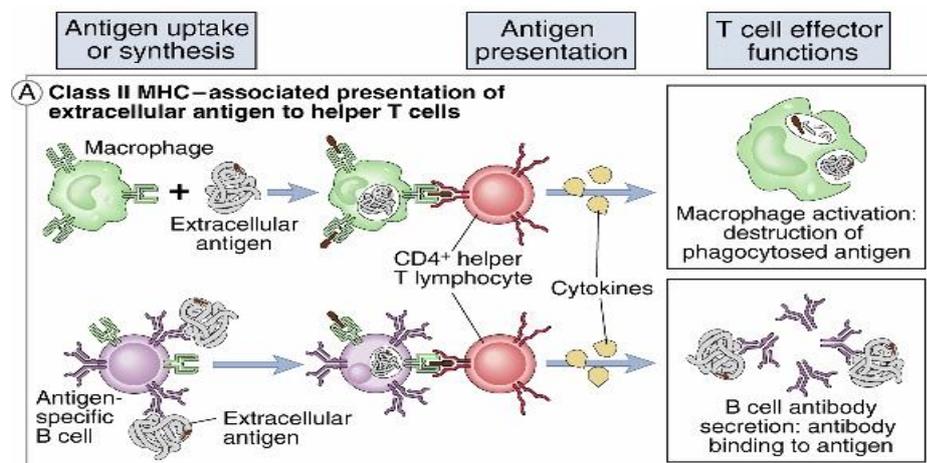
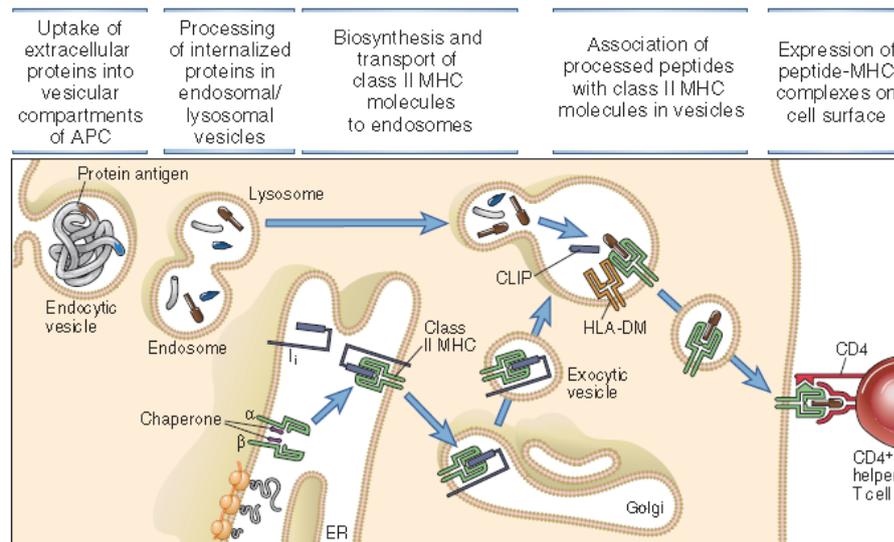
Limfosit adalah satu-satunya sel dengan reseptor spesifik untuk antigen dan karenanya merupakan mediator kunci kekebalan adaptif. Pada masa modern, sel-sel ini sering dibedakan dengan protein permukaan yang dapat diidentifikasi oleh panel antibodi monoklonal. Nomenklatur standar untuk protein-protein ini adalah penandaan numerik "CD" (klaster diferensiasi), yang digunakan protein permukaan untuk menentukan tipe sel (Luckheeram et al., 2012).

#### **2.5.2.2.1. Sel T CD4**

Sel T CD4 adalah sel darah putih yang merupakan bagian penting dari sistem kekebalan manusia. Sel-sel CD4 juga disebut T-limfosit, T-sel, atau sel T-helper (sel pembantu). Disebut sel pembantu karena salah satu peran utama mereka adalah mengirim sinyal ke sel-sel kekebalan jenis lain, termasuk sel-sel T CD8 sitotoksik, yang kemudian menghancurkan partikel yang menular. Jika sel T CD4 menjadi menurun, misalnya pada infeksi HIV yang tidak diobati, atau setelah penekanan kekebalan sebelum transplantasi, tubuh menjadi rentan terhadap berbagai macam infeksi yang seharusnya dapat dilawan. Tes CD4 adalah tes darah untuk menentukan seberapa baik sistem kekebalan tubuh bekerja pada seseorang. Tingkat CD4 rendah biasanya menunjukkan sistem kekebalan tubuh yang lemah dan berisiko lebih tinggi terkena infeksi oportunistik. Pada orang dengan sistem kekebalan yang baik, nilai CD4 berkisar antara 1400-1500. Sedangkan pada orang dengan sistem kekebalan yang terganggu (misal

pada orang yang terinfeksi HIV) nilai CD 4 semakin lama akan semakin menurun, bahkan pada beberapa kasus bisa sampai nol.

Sel T yang telah disintesis dari kelenjar *timus* disebut sel T CD4 naif akan terbawa oleh sirkulasi darah hingga masuk ke dalam *limpa* dan bermigrasi ke dalam *jaringan limfatik*, kemudian bermigrasi kembali ke dalam sirkulasi darah, hingga suatu saat terjadi terstimulasi oleh antigen tertentu dengan ikatan pada molekul MHC kelas II. Sel T helper merupakan sel yang berperan dalam proses pematangan sel B menjadi sel plasma dan aktivasi makrofag. Sel T helper menjadi aktif saat terpapar molekul MHC kelas II yang mengandung peptida antigen yang terdapat pada permukaan sel penyaji antigen (APC). Setelah teraktivasi, sel T helper segera membelah dengan cepat dan mensekresikan sitokin yang mengatur atau membantu respon kekebalan aktif. Sel T helper dapat membelah menjadi beberapa jenis, antara lain TH1, TH2, TH3, TH17, atau TFH, dengan sekresi sitokin yang berbeda untuk membangkitkan respon kekebalan yang berlainan. Proses pembelahan sel T helper masih belum dapat dipahami meski pola sinyal APC dianggap mempunyai andil yang besar di dalamnya (Gutcher & Becher, 2007).



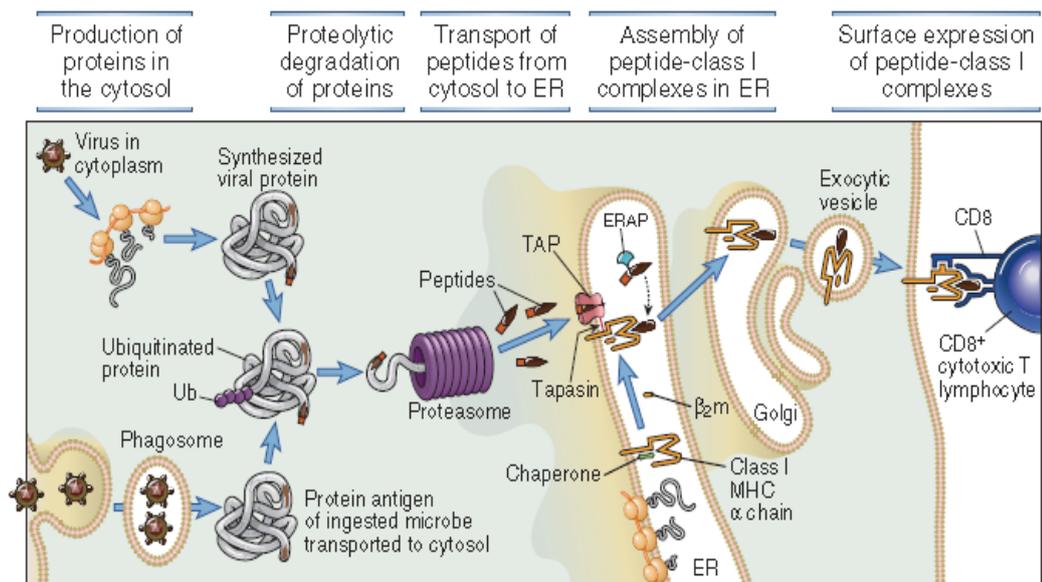
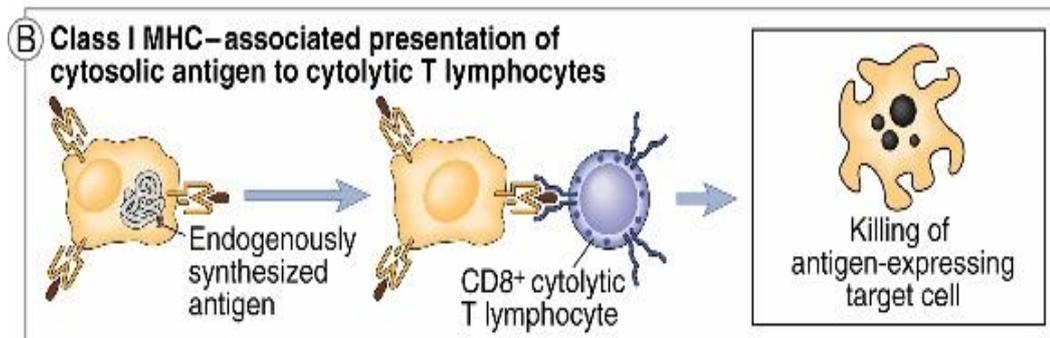
Gambar 2. 10 Peran penyajian antigen terkait MHC II dalam pengenalan mikroba oleh CD4

Sumber : Abbas, AK. Lichtman APS. Immunologi Dasar Abbas. 5th ed. singapura: Elsevier; 2016. 222-235 p(Abbas et al., 2016).

#### 2.5.2.2.2. Sel T CD8

Sel T CD8 atau sel T sitotoksik (T-Killer cell, cytolytic T cell, CD8+ T cell, TC, CTL) adalah limfosit yang mempunyai kapasitas untuk menginduksi kerusakan pada sel yang terinfeksi atau sel tumor. Sel T CD8 adalah sel 'penekan', yang mengakhiri respon kekebalan. Sel T CD8 juga disebut sebagai sel 'pembunuh', karena sel tersebut membunuh sel kanker

atau sel yang terinfeksi virus. Sel T CD8 dilengkapi dengan reseptor sel T (*TCR*) yang mengenali *antigen* peptida pada molekul *MHC kelas I*. Sel ini adalah penghancur sel terinfeksi virus, sel tumor dan terlibat pada penolakan transplantasi organ. Sel T sitotoksik disebut juga sel T CD8+ karena terdapat glikoprotein CD8+ pada permukaan sel yang mengikat MHC kelas I.<sup>50</sup>



Gambar 2. 11 Peran penyajian antigen terkait MHC I dalam pengenalan mikroba oleh CD8

Sumber : Abbas, AK. Lichtman APS. Immunologi Dasar Abbas. 5th ed. singapura: Elsevier; 2016. 222-235 p(Abbas et al., 2016).

Sel CD4+ dapat dibedakan dari sel CD8+ berdasarkan protein tertentu yang ada di permukaan sel. Limfosit-T CD4+ adalah sel T dari sistem kekebalan yang mempunyai molekul CD4+ pada permukaannya; limfosit-T CD8+ mempunyai molekul CD8+. Sel CD8+ dapat berubah cepat untuk mengatasi keadaan darurat apapun. Sel CD4+ lebih bertindak dalam pengawasan, menjaga segala sesuatunya. Fungsi efektor sel CD8+ T setelah vaksinasi BCG lebih rendah daripada sel CD4+ T. Sedangkan sel T CD4+ memediasi fungsinya dengan mengaktifkan sel-sel sistem kekebalan bawaan. Meskipun ada pandangan bahwa BCG menginduksi respons sel CD8+ T yang kurang baik *secara in vivo*, penelitian pada manusia sejalan dengan penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa vaksinasi BCG menginduksi respons sel T CD8+ spesifik antigen yang ditandai dengan peningkatan produksi IFN, degranulasi, proliferasi, dan peningkatan kadar protein sitotoksik. Namun, mekanisme dimana sel T CD8+ berkontribusi pada kemanjuran BCG, seperti fungsi sitotoksik, stimulasi sel lain *melalui* sitokin, kemokin, atau molekul mikrobisida, tetap sulit dipahami. Salah satu mekanisme yang kurang mendapat perhatian adalah kemampuan sel T CD8+ untuk menginduksi apoptosis sel *melalui* jalur FasL-Fas, dimana sel T CD8+ melumasi sel target yang mengekspresikan Fas. Dengan menginduksi apoptosis sel yang terinfeksi, sel kekebalan bawaan sehat lainnya dapat melakukan fagositosis pada tubuh apoptosis yang dihasilkan dan selanjutnya merangsang sel dari sistem kekebalan adaptif. Dengan demikian, penjelasan lain untuk kemampuan superior sel CD8+ T untuk mengendalikan penyebaran *M.tb* dapat terletak pada kemampuan mereka

untuk menginduksi jalur FasL-Fas di dalam limpa atau hati, sedangkan apoptosis sel di paru sangat terbatas untuk mencegah Kerusakan jaringan yang berlebihan yang dapat menyebabkan kegagalan paru. Dalam konteks ini, seseorang dapat membayangkan vaksin BCG yang direkayasa yang menginduksi apoptosis sel yang terinfeksi yang memungkinkan vaksin yang lebih mujarab melawan infeksi *Mtb*.<sup>2</sup>

Studi ini mengamati jumlah T CD4+ dan juga populasi sel CD4+ tidak signifikan untuk IFN $\gamma$  namun signifikan untuk TNF dan IL-2 yang menunjukkan bahwa BCG menghasilkan beragam respon imun yang diperlukan bayi. Dengan demikian, tampaknya efikasi BCG yang buruk terhadap *M.tb* mungkin disebabkan oleh kegagalan menghasilkan imunitas selular Th1 pada saat vaksinasi. Terlepas apakah BCG berkhasiat atau tidak menghasilkan respons Th1 yang kuat saat lahir, kekebalan tampak berkurang seiring bertambahnya usia. Dengan demikian, masalah mempertahankan kekebalan anti-mikobakteri muncul. BCG menstimulasi respon T helper 17 di paru. Dengan demikian, kehadiran IL-17A di paru-paru mungkin penting dalam menghasilkan respons imun yang efektif yang menguntungkan host (kontrol bakteri dengan peradangan terbatas) atau respons kekebalan yang pada akhirnya merusak host (kontrol bakteri awal dengan terlalu banyak peradangan yang kemudian menyebabkan pertumbuhan bakteri yang tidak terkontrol). Studi menunjukkan peran IL-17A dalam respon imun terhadap *M.tb*, terutama selama pembentukan granuloma awal. Menariknya, konsentrasi tinggi IL-17A yang membatasi patologi paru berkorelasi dengan adanya IL-10. Meskipun hubungan antara

IL-17A dan IL-10 tetap tidak jelas, IL-10 tampaknya memiliki peran immunosupresif selama pembangkitan kekebalan BCG, dan seperti IL-17A, IL-10 memainkan peran penting selama tahap awal infeksi *M.tb in vivo* (Moliva et al., 2017).

#### **2.5.2.2.3. Sel T regulator**

Seperti namanya sel T regulator (juga disebut Tregs) adalah sel T yang berperan dalam mengatur atau menekan sel lain dalam sistem kekebalan tubuh. Treg mengendalikan respon imun terhadap partikel asing dan antigen dan membantu mencegah penyakit autoimun (Rifa'i, 2010).

Peran sel T dapat dibagi menjadi dua fungsi utama : fungsi regulator dan fungsi efektor. Fungsi regulator terutama dilakukan oleh salah satu subset sel T, sel T penolong (CD4+). Sel-sel CD4+ mengeluarkan molekul yang dikenal dengan nama sitokin (protein berberat molekul rendah yang disekresikan oleh sel-sel sistem imun) untuk melaksanakan fungsi regulatornya. Sitokin dari sel CD4+ mengendalikan proses imun seperti pembentukan imunoglobulin oleh sel B, pengaktifan sel T lain dan pengaktifan makrofag. Fungsi efektor dilakukan oleh sel T sitotoksik (sel CD8+). Sel-sel CD8+ ini mampu mematikan sel yang terinfeksi oleh virus, sel tumor dan jaringan transplantasi dengan menyuntikkan zat kimia yang disebut perforin ke dalam sasaran "asing". Baik sel CD4+ dan CD8+ menjalani di kelenjar timus untuk belajar mengenal fungsi (Rifa'i, 2010).

Sel T regulator dapat terbentuk dengan berbagai cara. T reg dapat terbentuk dari perkembangan sel T pada organ timus. T reg yang

berkembang pada timus dikenal dengan nama “professional regulatory T cell” atau “natural occurring regulatory T cell”, sedangkan yang terbentuk di daerah periferal disebut induced regulatory T cells. T reg mempunyai potensi melakukan supresi terhadap sel efektor. Salah satu mekanisme supresi adalah mencegah produksi IL-2 disamping menghambat proliferasi sel target atau responder. T reg dapat secara langsung melakukan regulasi melalui kontak antar sel tanpa intervensi APC. T reg mencegah sekresi IL-2 oleh efektor dengan intervensi sel dendritik. Sel dendritik yang telah berinteraksi dengan T reg mempunyai daya supresi terhadap sel efektor sehingga disebut sel dendritik “tolerogenik”. Diketahui bahwa antigen mikobakteri memiliki potensi untuk bertindak sebagai auto-antigen, Karena, Treg dikenal untuk mengendalikan autoimunitas, menekan sel-sel tersebut dapat membuat orang yang divaksinasi lebih rentan terkena antigen mikobakteri yang menginduksi reaksi autoimun. Secara eksperimental, modulasi pada tingkat Treg telah terbukti menjanjikan untuk memperbaiki efikasi vaksin BCG. Namun, strategi tersebut juga cenderung mengganggu homeostasis kekebalan tubuh dan oleh karena itu, dapat menyebabkan kelainan imunologis seperti: gangguan autoimun dan inflamasi yang merusak. Sel T reg juga muncul sebagai pemain penting setelah imunisasi dengan BCG. Uji coba vaksinasi BCG secara parsial terkait dengan khasiat BCG dengan lokasi geografis dimana uji coba dilakukan. Efikasi protektif BCG yang rendah dilaporkan terjadi di wilayah-wilayah di dunia yang dekat dengan khatulistiwa, di mana Environment microbactery (EM) umum terjadi. Dengan demikian, efikasi protektif BCG dapat dipengaruhi oleh

pengembangan sel reseptor in host sebelumnya karena pra-paparan EM (Moliva et al., 2017), Pentingnya sel CD4+ T terlihat pada penelitian yang menunjukkan bahwa penipisan CD4+ menurunkan beban *M.tb* pada tikus yang divaksinasi BCG(Jaron et al., 2008). Demikian pula, BCG yang diacu dengan konstruksi Ag85 M.tb(Ag85-Mpt64-Mtb8.4) secara signifikan menurunkan jumlah sel Treg dan bahwa penipisannya berkorelasi dengan berkurangnya beban bakteri di paru-paru *M.tb* tikus yang terinfeksi(Luo et al., 2012). Selanjutnya, penelitian manusia pada orang dewasa yang divaksinasi BCG, yang menanggapi dengan peradangan kulit akibat imunisasi yang kuat, menunjukkan peningkatan jumlah sel CD4+.multifungsi yang signifikan. Namun, orang dewasa yang divaksinasi BCG yang mengembangkan peradangan kulit lokal ringan menunjukkan peningkatan tingkat sel CD8+ T(Boer et al., 2015). Dengan demikian, faktor-faktor yang mempengaruhi inflamasi akibat vaksinasi dapat mempengaruhi perkembangan sel Treg, misalnya karena polimorfisme genetik di dalam populasi atau paparannya terhadap lingkungan tertentu. Jika populasi tertentu memiliki kecenderungan untuk menghasilkan respons sel T yang kuat, vaksinasi BCG mungkin kurang efektif. Dengan demikian, memahami perbedaan genetik antara populasi manusia, dan khususnya perubahan yang muncul oleh lingkungan hidup mereka, dapat menghasilkan petunjuk yang berguna mengapa BCG gagal melindungi mereka terhadap *M.tb*. Sebenarnya, faktor penting yang perlu dipertimbangkan dalam hal ini adalah bahwa banyak penelitian tentang EM dilakukan dengan terlebih dahulu mengekspos hewan ke EM yang diikuti

dengan vaksinasi BCG. Karena BCG diberikan saat lahir, paparan EM kemungkinan terjadi setelah pemberian BCG. Oleh karena itu, penelitian di atas menyoroti bahwa penguat vaksin (BCG atau lainnya) setelah terpapar EM mungkin tidak membantu dalam pengembangan kekebalan lebih lanjut di mana sel Treg dapat berperan (Flaherty et al., 2006). Secara keseluruhan, sel Treg mungkin merugikan khasiat vaksin BCG melawan TB jika ada eksposur terhadap EM, sehingga menghalangi fungsinya selama vaksinasi BCG dalam mendorong kekebalan optimal terhadap Mtb (Moliva et al., 2017).

#### **2.5.2.2.4. Sel T CD1-Restricted**

Karena dinding sel mikobakteri terutama lipid 80%, penelitian juga berfokus untuk menjelaskan peran presentasi Ag yang dibatasi CD1 selama vaksinasi BCG. Manusia yang diimunisasi BCG memiliki sel CD8<sup>+</sup> T CD1 yang dibatasi yang mengenali DC yang terinfeksi BCG. Studi pada kelinci percobaan mendukung temuan ini, menunjukkan bahwa vaksinasi BCG menginduksi respons imun sel T mediator yang dimediasi oleh sel humoral dan CD1 yang distimulasi oleh lipoprotein mikobakteri dan lipoglikan. Mungkin sel CD8<sup>+</sup> dibatasi lipid ini, sel T memediasi respons kekebalan pada organ perifer seperti limpa dan hati dan dengan demikian bertanggung jawab untuk mempertahankan stadium kronis penyakit ini dan / atau membantu membangun infeksi laten. Populasi sel TCD8<sup>+</sup> CD1 yang dibatasi CD1 ini juga bisa menjadi mediator yang mencegah disfungsi TB dan TB yang disebarluaskan. Sayangnya, tidak adanya kelompok satu

molekul CD1 (CD1a, CD1b, dan CD1c) pada tikus telah menyulitkan untuk menjelaskan peran sebenarnya populasi sel CD8<sup>+</sup> T CD1 yang dibatasi terhadap kekebalan BCG dan selama infeksi *M.tb* (Moliva et al., 2017).

#### **2.5.2.2.5. Sel T multifungsi**

Bukti untuk korelasi lain dari kekebalan pelindung meningkat dengan ditemukannya sel CD4 multifungsi, yang secara bersamaan menghasilkan beberapa sitokin (biasanya TNF, IFN $\gamma$ , IL-17A, dan IL-2). Kontribusi sel-sel ini terhadap kekebalan mikobakteri telah dibahas secara menyeluruh di tempat lain, namun penting untuk menekankan bahwa sel T multifungsi tidak selalu berkorelasi dengan kekebalan protektif, harus dievaluasi secara hati-hati. Sebagai contoh, vaksin MVA85A (virus vaccinia modified Ankara yang dibuat untuk mengekspresikan Ag 85A dari *M.tb*) dikembangkan sebagai pendorong intranasal untuk BCG. Individu yang mendapat BCG-divaksinasi, MVA85A memiliki peningkatan sel T multifungsi yang signifikan dibandingkan dengan BCG saja yang membuat banyak orang menduga bahwa MVA85A akan meningkatkan khasiat BCG. Namun, penelitian lebih lanjut mengungkapkan bahwa dengan atau tanpa penguat MVA85A, individu yang divaksinasi BCG sama-sama rentan terhadap TB. Dengan demikian, sel T multifungsi mungkin merupakan bagian dari teka-teki, namun mungkin tidak berkontribusi secara signifikan terhadap kekebalan protektif terhadap TB (Moliva et al., 2017).

Secara keseluruhan, temuan ini mengungkapkan sifat kompleks vaksinasi dengan organisme hidup seperti BCG, di mana sulit untuk

menargetkan hanya satu cabang sistem kekebalan tubuh dan menghasilkan kekebalan jangka panjang yang efektif yang mencegah infeksi *M.tb* dan perkembangan TB. Mungkin alasan mengapa imunitas gagal di paru-paru bukan karena tanggapan sel T CD4+ kurang baik, namun karena mekanisme penghambatan di paru mencegah imunopatologi. Seperti yang disoroti di atas, peran utama sel CD8+ T tampaknya dalam mempertahankan fase kronis penyakit ini dan nampaknya sangat penting pada organ perifer. Dengan demikian, mungkin tidak selalu bahwa BCG adalah vaksin yang tidak efektif; Mungkin paru-paru menghambat BCG untuk hidup maksimal. Mendefinisikan kontribusi, baik atau buruk, dari subset sel kekebalan adaptif lainnya Th2, Th17, Treg, CD1-restricted, multifungsi, dll Juga penting. Selain itu, variabilitas genetika manusia dan lingkungan geografis tempat kita tinggal mungkin memiliki konsekuensi pada kemampuan kita untuk meningkatkan tanggapan kekebalan terhadap vaksin dan harus dipertimbangkan saat merancang percobaan di masa depan untuk menguji vaksin TB baru. Masalah pemahaman respons imun adaptif terhadap *M.tb* semakin diperumit oleh model hewan yang tidak benar-benar membuat rekapitulasi TB pada manusia. *M.tb* telah berevolusi untuk menginfeksi manusia dan dengan demikian, manusia mungkin satu-satunya spesies yang memiliki kunci untuk menjelaskan mekanisme yang bertanggung jawab untuk pembersihan mikobakteri (Moliva et al., 2017).

### **2.5.3. Respon Imunitas Humoral**

#### **Limfosit B**

Sebuah penelitian mengamati sel B pada paru-paru pasien TB, pada granuloma tikus dan primata yang terinfeksi M.tb, dan pada sapi yang terinfeksi M.bovis; ditemukan bahwa sel-sel ini dapat bertindak untuk mengatur dan memodulasi lingkungan kekebalan tubuh paru yang terinfeksi. Ada bukti peran sel B pada granuloma yang memproduksi antibodi spesifik M.tb, bertindak sebagai antigen presenting cells (APCs) dan mengurangi imunopatologi.

Vaksin efektif adalah vaksin yang mampu mencetuskan kekebalan yang tahan lama terhadap sebagian besar pathogen hal ini bergantung pada tanggapan kekebalan humoral berumur panjang yang muncul melalui antibodi. Vaksin BCG adalah induser kuat kekebalan humoral; Namun, karena sifat intrarelular infeksi M.tb, potensi antibodi sebagai kontributor signifikan terhadap kekebalan pelindung sebagian besar telah diabaikan. Namun, bukti baru telah muncul untuk mengidentifikasi peran potensial antibodi dan sel B dalam respons kekebalan yang dihasilkan oleh vaksinasi BCG(Moliva et al., 2017).

### **2.6. Pembentukan scar**

Penyembuhan luka merupakan suatu proses yang melibatkan respon seluler dan biokimia baik secara lokal maupun sistemik melibatkan proses dinamis dan kompleks dari koordinasi serial termasuk pendarahan, koagulasi, inisiasi respon inflamasi akut segera setelah trauma, regenerasi,

migrasi dan proliferasi jaringan ikat dan sel parenkim, serta sintesis protein matriks ekstraselular, remodeling parenkim dan jaringan ikat serta deposisi kolagen(Velnar et al., 2009).

Pada saat jaringan terluka, pembuluh darah yang terputus pada luka akan menyebabkan pendarahan, reaksi tubuh pertama sekali adalah berusaha menghentikan pendarahan dengan mengaktifkan faktor koagulasi intrinsik dan ekstrinsik, yang mengarah ke agregasi platelet dan formasi clot vasokonstriksi, pengerutan ujung pembuluh darah yang putus (retraksi) dan reaksi haemostasis. Reaksi haemostasis akan terjadi karena darah yang keluar dari kulit yang terluka akan mengalami kontak dengan kolagen dan matriks ekstraseluler, hal ini akan memicu pengeluaran platelet atau dikenal juga dengan trombosit mengekspresi glikoprotein pada membran sel sehingga trombosit tersebut dapat beragregasi menempel satu sama lain dan membentuk massa (clotting). Massa ini akan mengisi cekungan luka membentuk matriks provisional sebagai scaffold untuk migrasi sel-sel radang pada fase inflamasi(Landén et al., 2016).

Tidak hanya menyebabkan perdarahan, namun pada fase awal turut bekerja pula protein – protein seperti fibronectin, vitronectin dan thrombospondin serta sel – sel imun yang berperan dalam penyembuhan luka. Peran makrofag dalam angiogenesis, proliferasi sel fan migrasi sel – sel imun pada fase inflamasi sangat besar. Pada fase awal makrofag berfungsi membersihkan sel- sel mati, jaringan nekrosis dan metabolit beracun pada lokasi luka(Simpson & Ross, 1972).

DAMPs dan PAMPs yang keluar dari pathogen atau jaringan yang luka, juga kerja dari interferon- $\gamma$  [(IFN- $\gamma$ ) yang dihasilkan dari sel natural killer mampu mengubah polarisasi makrofag menjadi makrofag proinflamasi (M1). Makrofag ini (M1) menghasilkan sitokin -sitokin proinflamasi diantaranya IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12, IL23, dan TNF- $\alpha$ , serta kemokin yang menginduksi kerja atau respon dari sel natural killer, sel T Helper dan makrofag lain. Makrofag M1 juga mampu membersihkan debris dari situs luka(Galli et al., 2011).

Selain mencetuskan inflamasi, makrofag di situs luka juga berperan dalam proses apoptosis neutrophil dan menghentikan inflamasi. Proses ini disebut dengan efferositosis. Aksi ini sendiri menginduksi perubahan fenotip makrofag menjadi M2 atau makrofag antiinflamasi. Beberapa penelitian mengatakan adanya peran sel T regulator dalam perubahan fenotip ini. Sel T regulator menginduksi makrofag menghasilkan lebih banyak sitokin – sitokin antiinflamasi seperti IL-10. Selain itu M2 juga berperan mempromosikan angiogenesis dan proliferasi fibroblast dan *transforming growth factor- $\beta$*  (TGF- $\beta$ ) dan VEGF(Hesketh et al., 2017).

## 2.7 Virulensi

Kemampuan bakteri untuk menyebabkan suatu penyakit dipengaruhi oleh beberapa factor, diantaranya jumlah bakteri yang menginfeksi, rute masuknya bakteri efek yang terjadi pada host, dan karakteristik intrinsik pada bakteri itu sendiri (Keen, 2012). Rute masuk bakteri tergantung dari jenis bakteri itu sendiri. Ada yang melewati saluran gastrointestinal, saluran

pernapasan, saluran urin atau melalui darah akibat luka yang terkontaminasi. Ketika sudah didalam tubuh, pathogen harus bernegosiasi dengan lingkungan internal untuk mencapai situs infeksi dimana pathogen tersebut dapat terikat, berproliferasi dan berinteraksi dengan target intraseluler (Boyd, 2012). Hubungan virulensi dengan karakter klinis dari penyakit banyak diteliti. Sebuah penelitian menggunakan empat strain tuberculosis yang berbeda dilakukan pada hewan coba marmot. Penelitian ini menilai dari aspek pulmonal dan ekstra pulmonal. Untuk aspek pulmonal peneliti menilai berapa persen bagian paru yang terkena, ada tidaknya lesi primer dan sekunder, mineralisasi, dan fibrosis. Sedangkan untuk aspek ekstrapulmonal dinilai berapa persen organ yang terkena, ada tidaknya nekrosis, fibrosis dan mineralisasi. Hasil penelitian ini didapat bahwa bakteri tuberculosis strain Erdman K01 adalah strain yang paling virulen. Namun yang menarik, jumlah kultur bakteri yang diambil dari paru, limpa dan nodus limfe peribronkial tidak memiliki korelasi dengan virulensi dari masing – masing strain. Namun aspek lain berkorelasi positif dengan virulensi strain ini, diantaranya nekrosis granuloma dan ekstrapulmonal serta ditemukannya lesi di jantung ditemukan pada marmot yang terinfeksi strain Erdman K01 (Palanisamy et al., 2008).