

## **DISERTASI**

**ANALISIS EKSPRESI mRNA GEN DAN KADAR PROTEIN  
NATURAL RESISTANT ASSOCIATED MACROPHAGE PROTEIN-1  
(NRAMP1) SERTA VITAMIN D RECEPTOR (VDR) TERHADAP  
RESPON TERAPI DENGAN VIRGIN COCONUT OIL (VCO) DAN  
BERJEMUR PADA LIMFADENITIS TUBERKULOSIS**

**ANALYSIS OF NATURAL RESISTANT ASSOCIATED MACROPHAGE  
PROTEIN-1 (NRAMP1) AND VITAMIN D RECEPTOR (VDR) mRNA  
EXPRESSION AND PROTEIN LEVELS AGAINST THERAPY  
RESPONSE WITH VIRGIN COCONUT OIL (VCO) AND SUNBATHING  
IN TUBERCULOUS LYMPHADENITIS**

**FATHUL DJANNAH**

**C131081041**



**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

**PENGAJUAN DISERTASI**

**ANALISIS EKSPRESI mRNA GEN DAN KADAR PROTEIN  
*NATURAL RESISTANT ASSOCIATED MACROPHAGE PROTEIN-1*  
(*NRAMP1*) SERTA *VITAMIN D RECEPTOR (VDR)* TERHADAP  
RESPON TERAPI DENGAN *VIRGIN COCONUT OIL (VCO)* DAN  
BERJEMUR  
PADA LIMFADENITIS TUBERKULOSIS**

Disertasi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Doktor

Program Studi

S3 Ilmu Kedokteran

Disusun dan diajukan oleh

FATHUL DJANNAH

Kepada

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2023**

DISERTASI

**ANALISIS EKSPRESI GEN m-RNA DAN KADAR PROTEIN NATURAL RESISTENT ASSOCIATED MACROPHAGE PROTEIN-1 (NRAMP-1) SERTA VITAMIN D RECEPTOR (VDR) TERHADAP RESPON TERAPI DENGAN VIRGIN COCONUT OIL (VCO) DAN BERJEMUR PADA LIMFADENITIS TUBERCULOSIS**

*Analysis of Ekspresion of m-RNA and Level Protein of Natural Resistance-Associated Macrophage-1 and Vitamin D Receptor Genes in Cervical Lymphadenitis Tuberculosis with Supplementation Virgin Coconut Oil (VCO) and Sunbathing in Tuberculous Lymphadenitis*

Disusun dan diajukan  
Oleh

**Fathul Djannah**  
C013181041

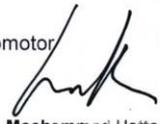
Telah dipertahankan di hadapan Penilai Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 2 Februari 2023 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Promotor

  
**Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D., Sp.MK**  
Nip. 19670910 199603 1 001

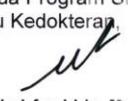
Co. Promotor

  
**Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D., Sp.MK(K)**  
Nip.19700821 199903 1 001

Co. Promotor

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

Ketua Program Studi S3  
Ilmu Kedokteran

  
**Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes**  
Nip.19671103 199802 1 001

Dekan Fakultas Kedokteran  
Universitas Hasanuddin

  
**Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, FINASIM Sp.GK**  
Nip.19680530 199603 2 001



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI  
**UNIVERSITAS HASANUDDIN**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
Jl. Perintis Kemerdekaan Kampus Tamalanrea Km. 10 Makassar 90245  
Telp. ( 0411 ) 586010, 585836, 586200 Psw. 2767 Fax. (0411) 586297

**PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : **Fathul Djannah**  
Nomor Pokok : C013181041  
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran  
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulis saya berjudul : **Analisis Ekspresi mRNA Gen dan Kadar Protein Natural Resistance Associated Macrophage Protein-1 (NRAMP-1) dan Vitamin D Receptor (VDR) Terhadap Respon Terapi dengan Virgin Coconu Oil (VCO) dan Berjemur pada Limfadenitis TB**

Adalah karya tulis 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 bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 20 Januari 2023

Yang menyatakan,



**Fathul Djannah**

## PRAKATA

Assalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh.

Alhamdulillah, Segala Puji hanya untuk Allah SWT. Karena sesungguhnya hidup, mati, ibadahku hanya untuk menghamba kepada Mu Ya Allah. Sehingga semua yang terjadi kepada Penulis, termasuk dapat menuntaskan perjalanan panjang, selama 4,5 tahun (2018-2023), menyusuri dari puskesmas ke puskesmas se Pulau Lombok, mencari tetesan darah, merangkai kata demi kata, sampai akhirnya di titik tahapan hari ini. Demi sebuah karya akademik terbaik dan tertinggi yang penulis hasilkan, sebuah disertasi dengan judul : “Analisis Ekspresi Gen m-RNA dan Kadar Protein Natural Resistance Associated Macrophage Protein-1 (NRAMP-1) dan *Vitamin D Receptor (VDR)* terhadap Respon Terapi dengan Virgin Coconut Oil (VCO) dan Berjemur pada Limfadenitis Tuberkulosis”. Disertasi ini disusun sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Doktor dari Program Studi S3 Ilmu Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Penulis menyadari bahwa dalam menyusun sebuah karya ilmiah tidak ada kata sempurna, karena Hanya Allah yang Maha sempurna. Di tengah kegalauan apakah disertasi ini bisa dituntaskan, pada saat itulah penulis merasa disertasi ini apakah layak atau tidak. Karena masih banyak kelemahan di sana sini. Setiap diskusi dengan promotor dan co promotor sangatlah terasa bahwa disertasi ini masih jauh dari kata sempurna, apalagi menjawab impian Indonesia Bebas TBC. Tetapi tugas manusia dan penulis adalah berikhtiar dan ikhtiar itu dibatasi oleh takdir dan keterbatasan manusia sebagai hamba. Cukuplah ini sebagai bagian dari proses mencari hakikat bahwa semua hanya Allah tempat kembalinya segala sesuatu.

Dengan tersusunnya disertasi ini, sebagai tanda syukur kepada semua perantara atas semua ini dengan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Rektor Universitas Mataram, Dekan Fakultas Kedokteran Unram yang telah memberi “*challenge*” dengan memberi kesempatan bagi penulis untuk menjadi mahasiswa kembali. Kembali ke Kampus Universitas Hasanuddin, tempat di mana penulis menuntaskan Pendidikan Profesi Dokter Umum, 20 tahun silam.

Penulis mengucapkan terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Prof. dr. Muhammad Nasrum Massi, Ph.D, Sp.MK (K) selaku Ketua Tim Promotor, yang telah bersedia menerima penulis

sebagai mahasiswa bimbingan, memberikan ilmu, inspirasi dan motivasi serta senantiasa meluangkan waktu dan kesempatannya untuk membimbing selama masa studi terutama saat riset dan penyelesaian disertasi ini. Penulis juga menyampaikan terima kasih untuk Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D., Sp.MK(K) dan dr. Agussalim Bukhari, M.Clin, Med, Ph.D, Sp.GK(K), selaku kopromotor, yang berkenan memberi bimbingan, arahan masukan dan semangat motivasi selama masa studi penulis dan penyelesaian disertasi ini.

Penulis juga mengucapkan terima kasih dan penghargaan kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa.,M.Sc. selaku Rektor Universitas Hasanuddin Makassar;
2. Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes., Sp.PD (K-GH), Sp.GK., FINASIM selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar
3. Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes; selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar
4. Seluruh Tim penguji: Prof. dr. Mulyanto, dr. Upik Anderiani Miskad, PhD., Sp.PA(K), Dr. dr. Rina Masadah, Sp.PA(K),M.Phil, DFM, dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc, Ph.D, Sp.MK(K), dr. Arif Santoso, PhD., Sp.P(K), Dr.dr. Burhanuddin Bahar, MS
5. Kedua orang tua penulis, ayahanda H. Amang Mulia yang menjadi “api penyemangat” dalam hidup, selama menemuk pendidikan ini hingga akhirnya almarhum meninggalkan kami saat penulis menempuh pendidikan doktoral ini. Juga ibunda Hj Umi Rosidah yang dengan penuh cinta kasihnya menjadi air penyejuk yang selalu ada dan mendampingi di saat saat dibutuhkan. Beliau adalah “Jimat Kehidupan” yang selalu mendoakan penulis dalam suasana suka dan duka.
6. Kedua orang tua penulis (dari suami penulis), Uma Tua Drs H Abdullah Ab (alm) dan Tua Umi Hj Nuraini atas doa yang senantiasa tercurahkan dan yang diberikan kepada penulis terutama selama masa studi. Terima kasih untuk saudara-saudara penulis (Mamiq Ihda Sofia, dr . Rihul Warda Yobi Taufik Mauluddin, Mommy Sitta, drg Mila Islami sang calon spesialis bedah mulut dan saudara-saudara penulis (dari suami) Tante Ni, Dae Doni dan Dae Roni atas doa, bantuan dan dukungannya selama penulis menjalani studi.
7. Suami saya tercinta,H Muhammad Ramdhani. M.Si yang senantiasa memberikan doa restu, kasih sayang, motivasi dan semangat untuk penulis. Juga kepada kedua Ananda tercinta, Kakak Daffa Aulia Faza Adhima dan Adek Rafa Annisa Fatira Adhima yang menjadi

penyemangat jiwa dan mendorong penulis untuk menyelesaikan studi dengan baik dan sungguh-sungguh.

8. Ibu Fitri yang telah mendampingi selama penelitian sampai titik akhir studi ini serta Pak Rifai yang selalu mendampingi, membantu mengantar, keliling Lombok selama penelitian serta para analis medis Mutia Hutami Ningrum, Intan dan yang lainnya yang tidak dapat disebut satu persatu yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.
9. DR. dr. Najdah Hidayah., M.Kes yang membantu, mengawal sejak pembuatan proposal sampai selesainya penelitian ini yang selalu memberikan motivasi, dorongan, dan informasi-informasi kepada peneliti sehingga peneliti dimudahkan selama masa studi.
10. Staf Laboratorium HUM-RC Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Handayani Halik,S.Si, M.Si, Yusuf,S.Si dan Mbak fidy atas bantuannya selama penulis melakukan penelitian.
11. Staf S3 kedokteran Universitas Hasanuddin (Bapak Akmal, Bapak Mumu dan Bapak Rahmat) atas bantuannya selama penulis menjalani masa studi.
12. Semua teman-teman seperjuangan selama di program studi S3 Ilmu Kedokteran, Bapak Dekan Dr. dr Hamsu Kadriyan, Sp.THT-KL., M.Kes, Dr. dr. Lina Nurbaiti, M.Kes, DR. dr. Rohadi, Sp.BS, Dr. dr. Herpan Syafii Harahap, SpS, Dr. dr. Indah Wardani, Sp.PD, Dr. dr. Widiastuti, M.Kes dan teman teman yang lain yang tidak dapat disebutkan satu persatu.
13. Semua pihak yang telah membantu kegiatan penelitian, atas perhatian, perkenan dan bantuan yang telah diberikan hingga tersusunnya disertasi ini.

Dengan memperhatikan dan mengikuti bimbingan, arahan dan perbaikan dari tim promotor, penulis berharap disertasi ini dapat bermanfaat bagi semua yang membacanya.

Makassar, 01 Februari 2023

FATHUL DJANNAH

## ABSTRAK

FATHUL DJANNAH. *Analisis Ekspresi m-RNA Gen dan Kadar Protein Natural Resistent Associated Macrophage Protein-1 (NRAMP-1) serta Vitamin D Receptor (VDR) terhadap Respon Terapi dengan Virgin Coconut Oil (VCO) dan Berjemur pada Limfadenitis Tuberculosis* (dibimbing oleh Muh. Nasrum Massi, Mochammad Hatta, dan Agussalim Bukhari).

Penelitian ini bertujuan membandingkan ekspresi dan kadar protein NRAMP-1 dan VDR setelah suplementasi VCO dan berjemur di *cervical lymphadenitis tuberculosis* (CLn-TB) selama enam bulan. CLn-TB adalah bentuk paling umum dari TB ekstra paru. Wawasan baru tentang mekanisme pertahanan terhadap TB adalah faktor genetik, yang dapat memengaruhi respons pasien TB, termasuk *natural resistance associated macrophage protein-1* (NRAMP-1) dan reseptor Vitamin D (VDR). Banyak penelitian telah melaporkan bahwa obat tradisional termasuk *virgin coconut oil* (VCO) memiliki efek yang baik pada TB paru tetapi belum ada penelitian pada CLn-TB. Penelitian ini menggunakan studi intervensional dengan dengan teknik penyampelan konsekutif. Kriteria inklusi penelitian ini adalah pasien yang telah didiagnosis Ln-TB secara sitologi dan histopatologi di puskesmas di Lombok. Kriteria eksklusi penelitian ini antara lain pasien Ln-TB dengan TB paru; adanya penyakit kronis lain; data rekam medik tidak lengkap; pasien sudah minum OAT lebih dari satu bulan; pasien hamil; pasien dengan infeksi kronis selain TB; pasien dengan penyakit sistemik seperti sebagai diabetes mellitus; gagal ginjal dan penyakit hati kronis; dan penderita gangguan kekebalan tubuh seperti HIV karena dapat mempengaruhi nilai kadar protein NRAMP-1. Semua peserta penelitian diberikan informasi sebelum mengisi dan menandatangani persetujuan penelitian ini. 108 pasien CLn-TB dibagi menjadi 3 kelompok, yakni 36 pasien pada kelompok kontrol (hanya OAT), 36 pasien pada kelompok perlakuan 1 (OAT dengan suplementasi VCO 1000 mg/hari), dan 36 pasien pada kelompok perlakuan 2 (OAT dengan suplementasi VCO 1000 mg/hari dan 30 menit berjemur selama enam bulan). Darah diambil dari kelompok masing-masing sebelum pengobatan dan pada dua bulan serta enam bulan setelah pengobatan. Sampel darah diperiksa *real time* PCR untuk mengetahui ekspresi gen NRAMP-1 dan VDR dan Elisa untuk mengetahui kadar protein NRAMP-1 dan VDR serta dilakukan FNAB untuk evaluasi dari Ln-TB. Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan peningkatan ekspresi gen NRAMP-1 dan VDR serta kadar protein NRAMP-1 pasien Ln-TB dengan VCO dan berjemur pada bulan ke-6 setelah pengobatan.

Kata kunci: limfadenitis TB, TB kelenjar, *virgin coconut oil*, berjemur



## ABSTRACT

FATHUL DJANNAH. *The Analysis of Gene m-RNA Expression and Protein Level of Natural Resistant Associated Macrophage Protein-1 (NRAMP-1) and Vitamin D Receptor (VDR) on Response to Therapy with Virgin Coconut Oil (VCO) and Sunbathing in Tuberculosis Lymphadenitis* (supervised by Muh. Nasrum Massi, Mochammad Hatta, and Agussalim Bukhari)

This study aims to compare the expression and protein level of NRAMP-1 and VDR after VCO supplementation and sunbathing in CLnTB for six months. Cervical lymphadenitis tuberculosis (CLnTB) is the most common form of extrapulmonary TB. A new insight into the defence mechanisms against TB is a genetic factor, which may affect the response of TB patients, including Natural Resistance Associated Macrophage Protein-1 (NRAMP-1) and Vitamin D Receptor (VDR). Many studies have reported that traditional medicines including Virgin Coconut Oil (VCO) have a good effect on pulmonary TB but there have been no studies on CLnTB. This is an interventional study with consecutive sampling. The inclusion criteria for this study were patients who had been diagnosed with LnTB by cytology and histopathology at the public health center in Lombok. Exclusion criteria included LnTB patients with pulmonary TB, presence of other chronic diseases, incomplete medical record data, patients who had been taking OAT for more than one month, pregnant patients, patients with chronic infections other than TB, patients with systemic diseases such as diabetes mellitus, kidney failure and chronic liver disease, and people with immune disorders such as HIV because it could affect the value of NRAMP-1 protein level. All research participants were provided with information before filling out and signing informed consent for this study. There were 108 CLnTB patients divided into 3 groups, 36 patients in the control group (only OAT), 36 patients in treatment group 1 (OAT with 1000 mg/day VCO supplementation), and 36 patients in treatment group 2 (OAT with 1000 mg/day VCO supplementation and 30 minutes of sunbathing for six months). Blood was taken from each group before treatment, at two months and six months after treatment. Blood samples were examined by Real Time PCR to determine the expression of the NRAMP-1 and VDR genes and Elisa to determine the protein level of NRAMP-1 and VDR and FNAB was performed for evaluation of LnTB. The results show that there are differences in the increase in NRAMP-1 and VDR gene expression and NRAMP-1 protein level in LnTB patients with VCO and sunbathing at 6 months after treatment.

Keyword: TB lymphadenitis, glandular TB, virgin coconut oil, sunbathing



## DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL.....	
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI .....	iv
PRAKATA .....	v
ABSTRAK .....	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah / Pertanyaan Penelitian .....	6
C. Tujuan Penelitian .....	6
1. Tujuan Umum.....	6
2. Tujuan Khusus .....	7
D. Manfaat Penelitian .....	7
1. Manfaat bagi pengembangan ilmu .....	7
2. Manfaat Aplikasi.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
A. Limfadenitis Tuberculosis.....	9
B. Pengobatan Limfadenitis Tuberculosis .....	25
C. Makrofak .....	25

D. Natural Resistance Associate Macrophage Protein-1 (NRAMP-1).....	29
E. Vitamin D .....	39
F. Vitamin D Receptor (VDR) .....	42
G. Hubungan VDR dengan Tuberculosis .....	48
H. Hubungan Infeksi TBC Dengan Vitamin D .....	52
I. Peran Vitamin D Pada Sistem Imun Infeksi TBC.....	53
J. Vitamin D, Imunitas Innate, dan Infeksi TBS .....	56
K. Vitamin D, Imunitas Adaptif, dan Infeksi TBC.....	57
L. Virgin Coconut Oil (VCO) .....	63
M. Kerangka Teori.....	78
N. Hipotesis .....	80
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>81</b>
1. Desain Penelitian.....	81
2. Tempat dan Waktu Penelitian.....	81
3. Populasi Penelitian .....	81
4. Sampel Penelitian.....	81
5. Kriteria Sampel.....	81
6. Metode Analisis .....	84
7. Etika Penelitian.....	85
8. Pemeriksaan Laboratorium.....	85
9. Identifikasi dan Teknik Pelaksanaan .....	86
10. Cara Kerja .....	87
11. Analisis Data.....	92
12. Alur Penelitian .....	95

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	96
A. Hasil .....	96
1. Perbandingan dalam grup antara kelompok OAT, OAT+VCO dan OAT+VCO Berjemur .....	101
2. Perbandingan antar grup antara kelompok OAT, OAT+VCO dan OAT+VCO Berjemur .....	110
B. Pembahasan .....	116
1. Karakteristik Sampel .....	116
2. Ekpresi dan Kadar NRAMP-1 .....	121
C. Ekspresi Gen dan Kadar Protein VDR .....	126
D. Upaya Bakteri Menurunkan Regulasi Gen VDR .....	128
E. VCO dan Berjemur .....	132
F. Hubungan Ekspresi dan Kadar Dengan Kesembuhan .....	135
G. Ekspresi Gen dan Interaksi Gen-Lingkungan .....	135
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	139
A. Kesimpulan .....	139
B. Saran .....	139
DAFTAR PUSTAKA.....	140
LAMPIRAN .....	150

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. tinjauan pustaka NRAMP-1 .....	37
Tabel 2. Tabel tinjauan pustaka VDR dan TB.....	58
Tabel 3. Tabel Meta Analisis VDR dan TB.....	60
Tabel 4. Tabel Tinjauan Pustaka VCO.....	76
Tabel 5. Definisi Operasional Penelitian .....	83
Tabel 6. Susunan Primer untuk Pemeriksaan Ekspresi Gen dengan qPCR.....	91
Tabel 7. Karakteristik responden jenis kelamin, histopatologi, lokasi asal .....	96
Tabel 8. Perbandingan dalam grup antara kelompok OAT, OAT+VCO dan OAT+VCO Berjemur pada ekspresi gen dan kadar protein NRAMP-1 dan VDR .....	102
Tabel 9. Perbandingan antar grup antara kelompok OAT, OAT+VCO dan OAT+VCO Berjemur pada ekspresi gen dan kadar protein NRAMP-1 dan VDR .....	110

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Benjolan Pada Leher (Dokumen pribadi) .....	14
Gambar 2 Limfadenitis Tuberculosis (Orrel Stevante, 2005; Koss, 2005)	15
Gambar 3 Aspirat FNAB yang dismeared pada objek glass (dokumen pribadi).....	16
Gambar 4 Objek glass dengan aspirat FNAB (dokumen pribadi) .....	16
Gambar 5 sel epithelioid pada apusan aspirat FNAB(Orrel, 2005) .....	17
Gambar 6 Gambaran macrophage dari sumsum tulang sampai dengan jaringan .....	27
Gambar 7 Gambaran macrophage dari sumsum tulang sampai dengan jaringan .....	27
Gambar 8 Mekanisme gen NRAMP-1 menghambat pertumbuhan bakteri dalam sel makrofag (Weiss, 2015).....	33
Gambar 9 Lokasi Gen VDR pada kromosom 12 pada lengan panjang (q) kromosom 12 di posisi 13.11 .....	44
Gambar 10 Struktur ekson-intron dari gen VDR dan posisi polimorfisme FokI, TaqI dan ApaI. VDR terletak pada kromosom 12 dan berisi sembilan ekson: nomor 1, yang ditunjuk a-f dan ditandai dengan bilah hitam, berisi enam subunit yang tidak diterjemahkan di wilayah .....	44
Gambar 11 Gambar skematik komposisi protein VDR.....	45
Gambar 12 Gambar skematik komposisi protein VDR.....	47
Gambar 13 Aktivasi sistem imun bawaan yang dimediasi vitamin D .....	51
Gambar 14 Alat FNAB (Dokumen Pribadi) .....	86
Gambar 15 Diagram karakteristik responden berdasarkan jenis kelamin	97
Gambar 16 Diagram karakteristik responden berdasarkan umur .....	97
Gambar 17 Diagram karakteristik responden berdasarkan lokasi.....	98

Gambar 18 Gambaran makroskopis sampel kelompok OAT. A. Sebelum pengobatan. B. 2 bulan setelah pengobatan. C 6 bulan setelah pengobatan.....	98
Gambar 19 Gambaran makroskopis sampel kelompok OAT +VCO. A. Sebelum pengobatan. B. 2 bulan setelah pengobatan. C 6 bulan setelah pengobatan.....	99
Gambar 20 Gambaran makroskopis sampel kelompok OAT +VCO+Berjemur. A. Sebelum pengobatan. B. 2 bulan setelah pengobatan. C 6 bulan setelah pengobatan .....	99
Gambar 21 Gambaran mikroskopis sampel kelompok OAT. A. Sebelum pengobatan. B. 2 bulan setelah pengobatan. C 6 bulan setelah pengobatan.....	100
Gambar 22 Gambaran mikroskopis sampel kelompok OAT. A. Sebelum pengobatan. B. 2 bulan setelah pengobatan. C 6 bulan setelah pengobatan.....	100
Gambar 23 Gambaran mikroskopis sampel kelompok OAT. A. Sebelum pengobatan. B. 2 bulan setelah pengobatan. C 6 bulan setelah pengobatan.....	101
Gambar 24 Perbandingan ekspresi gen nRAMP-1 pada kelompok OAT .....	102
Gambar 25 Perbandingan kadar protein NRAMP-1 sebelum pengobatan, 2 bulan dan 6 bulan setelah pengobatan pada kelompok OAT .....	103
Gambar 26 ndingan ekspresi gen VDR pada kelompok OAT .....	104
Gambar 27 Perbandingan kadar protein VDR sebelum pengobatan, 2 bulan dan 6 bulan setelah pengobatan pada kelompok OAT .....	104
Gambar 28 Perbandingan ekspresi gen NRAMP-1 pada kelompok OAT+VCO.....	105
Gambar 29 Perbandingan kadar protein NRAMP-1 pada kelompok OAT+VCO.....	105
Gambar 30 Perbandingan ekspresi gen VDR pada kelompok OAT+VCO .....	106

Gambar 31 Perbandingan kadar protein VDR pada kelompok OAT+VCO .....	107
Gambar 32 Perbandingan ekspresi gen NRAMP-1 pada kelompok OAT+VCO+Berjemur .....	108
Gambar 33 Perbandingan kadar protein NRAMP-1 pada kelompok OAT+VCO+Berjemur .....	108
Gambar 34 Perbandingan ekspresi gen VDR pada kelompok OAT+VCO+Berjemur .....	109
Gambar 35 Perbandingan kadar protein VDR pada kelompok OAT+VCO+Berjemur .....	109
Gambar 36 Perbandingan ekspresi gen NRAMP-1 pada kelompok OAT, OAT+VCO dan OAT+VCO+Berjemur .....	111
Gambar 37 Perbandingan ekspresi gen NRAMP-1 pada kelompok OAT, OAT+VCO dan OAT+VCO+Berjemur .....	112
Gambar 38 Perbandingan ekspresi gen VDR sebelum pengobatan, 2 bulan dan 6 bulan setelah pengobatan pada kelompok OAT+VCO.....	113
Gambar 39 Perbandingan kadar protein VDR sebelum pengobatan, 2 bulan dan 6 bulan setelah pengobatan pada kelompok OAT+VCO.....	113
Gambar 40 Perbandingan ekspresi gen NRAMP-1 dengan kesembuhan .....	114
Gambar 41 Perbandingan level protein NRAMP-1 dengan kesembuhan .....	114
Gambar 42 Perbandingan ekspresi gen VDR-1 dengan kesembuhan ..	115
Gambar 43 Perbandingan level protein VDR dengan kesembuhan.....	116

## DAFTAR SINGKATAN

1 $\alpha$ ,24,25(OH) <sub>3</sub> D	: 1 $\alpha$ , 24,25-trihydroxyvitamin D <sub>3</sub>
1 $\alpha$ ,25(OH) <sub>2</sub> D / 1,25D	: 1 $\alpha$ , 25- dihydroxyvitamin D <sub>3</sub>
25 (OH) D	: 25-hydroxyvitamin D <sub>3</sub>
7-DHC	: 7- dehydrocholecalciferol
ADCP	: <i>antibody-dependent cellular phagocytosis</i>
ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
APC	: <i>antigen-presenting cell</i>
ATP	: adenosine triphosphate
ARMS	: <i>Amplification-refractory mutation system</i>
BAL	: <i>bronchoalveolar lavage</i>
bp	: <i>basepair</i>
BTA	: basil tahan asam
cAMP	: <i>cyclic adenosine 3',5'-monophosphate</i>
CD	: <i>Cluster of differentiation</i>
cDNA	: complementary DNA
CFP	: <i>culture filtrate protein</i>
CGI	: <i>CpG islands</i>
CI	: <i>confidence interval</i>
CLR	: <i>C-type lectin receptor</i>
CTL	: <i>cytotoxic T lymphocyte</i>
CYP24A1	: <i>Cytochrome P450 Family 24 Subfamily A Member 1</i>

	(menyandi 25-Hydroxyvitamin 24-hydroxylase)
CYP27B1	: <i>cytochrome p450 27B1 ( menyandi 25-Hydroxyvitamin D 1-alpha-hydroxylase)</i>
CYP2R1	: <i>Cytochrome P450 Family 2 Subfamily R Member 1</i>
DC	: <i>Dendritic cell</i>
DC-sign	: <i>Dendritic Cell-specific intercellular-adhesion-molecule-3- grabbing non- integrin</i>
dkk	: dan kawan-kawan
DM	: diabetes mellitus
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DosR	: <i>Dormancy survival regulator</i>
DosR	: <i>Dormancy survival regulator</i>
ELISA	: <i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
ESAT-6	: <i>early secretory antigen-6</i>
GAPDH	: <i>Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase</i>
GIF	: <i>Glucosylation Inhibition Factor</i>
HIV	: <i>Human immunodeficiency virus</i>
HUM-RC	: Hasanuddin University Medical – Research Center
IFN- $\gamma$	: <i>Interferon-gamma</i>
Ig	: <i>Immunoglobulin (A,G)</i>
IGRA	: <i>Interferon-gamma release assay</i>
IL	: <i>Interleukin (1,2,4,5,6,10,12,13,17,18,21,22,23)</i>

ILTB	: Infeksi laten tuberkulosis
IMT	: indeks massa tubuh
iNOS	: <i>isoform nitric oxide synthase</i>
LD	: <i>Linkage disequilibrium</i>
LJ	: Lowenstein-Jensen
LM	: <i>Lipomannan</i>
LPA2	: Phospholipase A2
Lpqh	: <i>Lipoprotein 19 kDa</i>
Lpr	: <i>Lipoprotein (LprA,LprG,LprQ)</i>
M1	: <i>makrofag tipe 1</i>
M2	: <i>makrofag tipe 2</i>
ManLAM	: <i>Mannose-capped Lipoarabinomannan</i>
MarP	: Mycobacterium tuberculosis protease
MDR-TB	: <i>multi-drug resistant TB</i>
MGIT	: <i>Mycobacteria Growth Indicator Tube</i>
MHC	: <i>major histocompatibility complex</i>
MIF	: <i>Macrophage Migration Inhibitory Factor</i>
Mincle	: <i>Macrophage-inducible C-type lectin</i>
mRNA	: <i>messenger RNA</i>
<i>Mtb</i>	: <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
NAFLD	: <i>non-alcoholic fatty liver disease</i>
NALC-NaOH	: <i>N-acetyl-L-cysteine-sodium hydroxide</i>
NASH	: <i>non-alcoholic steatohepatitis</i>
NCBI	: <i>National Center for Biotechnology Information</i>

NF-kB	: <i>nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>
NK	: <i>Natural killer (cell)</i>
nm	: nanometer
NO	: <i>Nitric oxide</i>
NO	: <i>nitrogen monoksida</i>
NOD2	: <i>Nucleotide Binding Oligomerization Domain Containing 2</i>
OAT	: obat anti tuberkulosis
OD	: <i>Optical density</i>
OR	: <i>Odds ratio</i>
P2PTM Kemenkes RI	: Direktorat Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Tidak Menular, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
PAMP	: <i>pathogen-associated molecular pattern</i>
PBMC	: <i>peripheral blood mononuclear cells)</i>
PCR	: <i>polymerase chain reaction</i>
PGE2	: prostaglandin E2
PIAS4	: <i>protein inhibitor of activated STAT 4</i>
PIM	: <i>phosphalidyl-myo-inositol mannosides</i>
PMN	: polimorfonuklear
PPD	: <i>purified protein derivative</i>
PRR	: <i>Pattern Recognition Receptor</i>
QFT-GIT	: QFT-Gold in Tube
QFT-Plus	: QuantiFERON-TB Plus
qPCR	: <i>Quantitative PCR</i>

RFLP	: <i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>
rhGIF	: <i>recombinant human Glucosylation Inhibition Factor</i>
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>
RNI	: <i>reactive nitrogen intermediate</i>
ROI	: <i>reactive oxygen intermediate</i>
Rpf	: <i>resuscitation promoting factors</i>
RT-PCR	: <i>reverse transcription PCR</i>
S,P,S	: Sewaktu, pagi, sewaktu
SD	: standar deviasi
TB	: Tuberkulosis
TFIIB	: <i>human basal transcription factor IIB</i>
TGF- $\beta$	: <i>transforming growth factor-<math>\beta</math></i>
Th	: <i>T-helper (1,2,17)</i>
TLR	: <i>toll-like receptors</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
VDBP	: <i>vitamin D binding protein</i>
VDR	: <i>Vitamin D Receptor</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
ZN	: Ziehl Neelsen

# BAB I PENDAHULUAN

## A. Latar Belakang Penelitian

*Mycobacterium tuberculosis* (mtb) sejak ditemukan 1882 oleh Robert Heinrich Herman Koch di Jerman sampai sekarang menjadi momok seluruh dunia. Penularannya melalui *airborne infection/droplet infection* dari batuk dan tanpa pemahaman dan keinginan kuat untuk sembuh dari penderita serta dukungan dari keluarga dan petugas kesehatan yang terus menerus maka penderita tuberkulosis (TB) yang tidak ditemukan atau yang berhenti pengobatan/putus obat menyebabkan infeksi TB bagaikan lingkaran yang tidak ada putusnya.

Infeksi TB masih menjadi salah satu dari 10 penyebab kematian tertinggi. Di 2017 TB merenggut nyawa 1.3 juta orang di dunia dan menyebabkan infeksi pada 10,6 juta orang (WHO, 2022). Berdasar atas data WHO (*World Health Organization*) *Global Report 2018* Indonesia masuk ke dalam 20 negara dengan jumlah pasien tertinggi di dunia (WHO, 2018). Data Kementerian Kesehatan RI pada tahun 2018 menyebutkan ditemukan jumlah kasus tuberkulosis sebanyak 1.017.290 kasus di Indonesia (Riskesmas 2018). Jumlah ini meningkat bila dibanding dengan seluruh kasus tuberkulosis yang ditemukan pada tahun 2014 yang sebesar 324.539 kasus. Di NTB pada tahun 2018 pasien TB sebanyak 19.247 meningkat dari 5.931 orang pada tahun 2014 (Riskesmas 2014).

Limfadenitis Tuberkulosis (LnTB) adalah tuberkulosis ekstra paru yang paling sering terjadi. Kejadian tertinggi didapatkan pada negara berkembang di Asia Tenggara dan pada penderita HIV AIDS (WHO, 2018). Menurut WHO 2018, TB ekstra paru ditemukan sebanyak 16 % dengan insiden tertinggi sebanyak 24 % di daerah Timur Tengah dan disebutkan pula didapatkan 58% kasus yang *under report* dari seluruh penderita TB di Indonesia. Di NTB didapatkan 682 kasus LnTB dari 1.020 kasus ekstra paru pada tahun 2010-2018 (Djannah F, 2022).

WHO menetapkan pemeriksaan dini TB adalah salah satu strategi untuk menuju ke *end TB* 2030. WHO telah mensahkan penggunaan GenXpert untuk dapat cepat mendiagnosis MTB termasuk pada ekstra paru dan pada kasus anak-anak dan banyak dilakukan penelitian tentang manfaat penggunaan GenXpert pada ekstra paru baik di daerah yang berat terpapar TB maupun rendah (WHO 2018, Khan Anwar Sheed, 2018; Habte Dereje etc, 2016; Tadesse Mulualem, 2015; Salvador Fernando; 2015). WHO dan Perhimpunan Dokter Paru Indonesia (PDPI) menetapkan penegakan diagnosis extra paru termasuk LNTB dengan pemeriksaan bakteriologis dan atau gambaran sitologi/histopatologi berupa gambaran kelompok sel epitheliod yang membentuk struktur granuloma dengan latar belakang nekrosis kaseosa dan atau adanya sel datia langhan (PDPI 2015; Penanggulangan Nasional TB, 2011) namun terkadang sulit ditegakkan bila tidak didapatkan ketiga

gambaran tersebut di atas sehingga membutuhkan tindakan open biopsi atau metode lain yang membutuhkan waktu yang lebih lama dalam mendiagnosis LnTB. Saat ini belum menjadi suatu yang rutin untuk dilakukan pemeriksaan basil tahan asam (BTA) atau GenXpert pada aspirat LnTB sebagaimana yang dilakukan rutin pada penderita tb paru (PDPI 2011; Penanggulangan TB 2011; Orrel, 2005; Koss, 2005) sebagaimana arahan WHO untuk mendeteksi adanya mtb dan resisten rifampisin dimana pada LnTB yang resisten pada rifampisin akan diketahui setelah pengobatan akan berakhir. Seperti pada penelitian Aljafari, AS, Khalil EAG dkk. di Sudan bahwa *polymerase chain reaction* (PCR) dan *fine needle aspiration* (FNA) yang dilakukan bersama sama dapat mendiagnosis 100% dari seluruh kasus LnTB (Aljafari, AS, Khalil EA, 2017) namun berbeda dengan penelitian Pahwa Ruma, Hedau Suresh dkk di India yang menyimpulkan bahwa aspirat FNAB yang di PCR hanya dapat dilakukan pada 55 kasus dari 100 kasus dan hanya 22 kasus yang positif (Pahwa Ruma, Hedau Suresh etc; 2015).

Beberapa penderita LnTB yang kemudian diterapi obat anti tuberkulosis (OAT) standar dapat menjadi lebih baik berupa mengecilnya benjolan di leher dan menurunnya keluhan umum pada penderita TB atau benjolan pecah dan kemudian menjadi scrofuloderma namun pada beberapa penderita LnTB yang lain dengan standat oat yang sama dapat terjadi benjolan di leher semakin besar dan bertambah jumlahnya. Hal ini menunjukkan adanya faktor-

faktor yang mempengaruhi kesembuhan atau keparahan seorang pasien LnTB yaitu antara lain faktor dari dalam pasien itu sendiri seperti gen yang mempengaruhi ketahanan tubuh pasien, status gizi, kepatuhannya minum obat sedangkan faktor dari luar dipengaruhi oleh resistensi kuman mtb dan lingkungan.

Saat ini sudah banyak diteliti tentang gen yang mempengaruhi ketahanan tubuh pasien pada mtb di TB paru. Gen tersebut antara lain adalah gen *Vitamin D Receptor* (VDR) dan *Natural Resistant Associated Macrophage Protein* (NRAMP1) yang mengaktifasi makrofag dan menghambat pertumbuhan mtb (Wu Linlin, 2015; Muayad Merza, 2009; Mestre mercedez F, 2015) dan gen *tumor necrosis factor* (TNF- $\alpha$ ) serta gen *mannose binding lectin* (MBL) yang berperan untuk membunuh mtb intraseluler (Wu Linlin, 2015).

Gen *NRAMP1* berada dalam makrofag yang berfungsi untuk mengeluarkan besi yang dibutuhkan oleh bakteri intraseluler termasuk mtb untuk dapat hidup. Gen *NRAMP* menunjukkan ketahanan atau kerentan imunitas seseorang pada infeksi mtb. Bila didapatkan kadar protein NRAMP yang tinggi, tubuh seseorang tidak mudah terinfeksi mtb. Bila terdapat kadar yang rendah, maka mtb mudah berkembang (Resnick Marianne Wessling, 2015; Zwilling Bruce Z, 1999; Jin Jing, 2008) seperti yang ditunjukkan pada penelitian Zhang Wenghong tahun 2005 yang menyebutkan bahwa gen *NRAMP1* berpengaruh pada keparahan pasien TB (Zhang Wenghong, 2005) dan Malik

Suneil dkk. di Kanada menyimpulkan bahwa alel dari gen *NRAMP1* sebagai salah satu faktor untuk menentukan tingkat keparahan pada penderita TB anak (Malik Suneil, 2005) namun masih sedikit penelitian tentang *NRAMP* pada LnTB.

Adapun studi tentang ekspresi gen *VDR* pada penyakit tuberkulosis belum banyak dilakukan. Penelitian di India menggunakan kultur makrofag pasien TB paru yang diinfeksi kuman *Mtb H37Rv* menunjukkan adanya peningkatan ekspresi mRNA *VDR* pada kultur makrofag pasien TB yang distimulasi *mtb* dibanding yang tidak distimulasi *mtb* (Selvaraj *et al.*, 2009). Studi lainnya, dengan subjek yang berbeda yaitu pasien yang sembuh dari TB ekstra paru, menunjukkan peningkatan ekspresi *VDR* pada makrofagnya yang diinfeksi *Mtb H37Rv* (Fiske *et al.*, 2019). *Vitamin D Receptor (VDR)* dapat mengaktivasi cathelicidin, sebuah antimikrobia.

Berbagai macam penelitian tentang herbal termasuk *virgin coconut oil (VCO)* untuk membantu respon terapi pada pasien tb paru. VCO atau kelapa murni adalah minyak kelapa yang dibuat dari bahan baku kelapa segar atau santan, diambil minyaknya, diproses dengan pemanasan terkendali atau pemanasan sama sekali dan tanpa bahan kimia. VCO memiliki kandungan *fatty acid* dengan asam laurat sebanyak 41-52% yang kemudian dalam tubuh akan diolah menjadi monolaurin yang bermanfaat sebagai anti virus, anti mikroba dan anti jamur, dapat meningkatkan metabolisme tubuh serta fungsi

imun dan kandungan polifenol dan vitamin E sebagai anti oksidan. Penelitian Kasman menunjukkan bahwa terapi OAT dengan VCO dapat meningkatkan konversi sputum bta dan status gizi di BBKPM Kota Makassar (Kasman, 2013). Begitu pula pada penelitian Arifin M. dkk. menunjukkan bahwa VCO dan albumin pada penderita TB dengan gizi kurang yang memperoleh *Directly Observed Treatment, Short-course* (DOTS) memperlihatkan konversi BTA yang lebih cepat, peningkatan status gizi dan lesi paru yang lebih baik dibandingkan kontrol (Arifin MZ dkk, 2014).

Dengan adanya masalah tersebut penulis bermaksud meneliti ekspresi gen *NRAMP1* dan kadar protein NRAMP1 dan *Vitamin D Receptor* (*VDR*) terhadap respon terapi dengan *virgin coconut oil* (VCO) dan berjemur pada penderita LnTB.

## **B. Rumusan Masalah / Pertanyaan Penelitian**

Bagaimanakah analisis perbedaan ekspresi gen dan kadar protein NRAMP1 dan VDR terhadap respon terapi penderita LnTB dengan kombinasi terapi tambahan (*Virgin Coconut Oil* dan berjemur)?

## **C. Tujuan Penelitian**

### **1. Tujuan Umum**

Untuk menganalisis perbedaan ekspresi gen dan kadar protein NRAMP1 dan VDR terhadap respon terapi penderita LnTB dengan kombinasi terapi tambahan (*Virgin Coconut Oil* dan berjemur).

## **2. Tujuan Khusus**

- a. Menganalisis perbedaan peningkatan ekspresi gen *NRAMP1* sebelum terapi, 2 bulan dan 6 bulan pada kelompok kontrol, VCO dan VCO + Berjemur.
- b. Menganalisis perbedaan peningkatan ekspresi gen *VDR* sebelum terapi, 2 bulan dan 6 bulan pada kelompok kontrol, VCO dan VCO + Berjemur.
- c. Menganalisis perbedaan peningkatan kadar protein gen *NRAMP1* sebelum terapi, 2 bulan dan 6 bulan pada kelompok kontrol, VCO dan VCO + Berjemur.
- d. Menganalisis perbedaan peningkatan kadar protein gen *VDR* sebelum terapi, 2 bulan dan 6 bulan pada kelompok kontrol, VCO dan VCO + Berjemur.

## **D. Manfaat Penelitian**

### **1. Manfaat bagi pengembangan ilmu**

Dengan dilakukannya penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan tentang kadar protein *NRAMP1* dan *VDR* serta manfaat VCO dan berjemur pada limfadenitis TB serta hubungannya dengan respon terapi.

### **2. Manfaat Aplikasi**

- a. Memberi informasi pada klinisi mengenai ekspresi mRNA gen *NRAMP1* dan kadar protein *NRAMP1* pada penderita limfadenitis TB dengan OAT dengan kombinasi terapi suportif VCO dan berjemur.

- b. Memberi informasi pada klinisi mengenai ekspresi mRNA gen VDR dan kadar protein VDR pada penderita limfadenitis TB dengan OAT dengan kombinasi support terapi VCO dan berjemur.
- c. Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi dasar penelitian selanjutnya yang lebih luas pada penderita limfadenitis TB dan TB ekstra paru pada umumnya.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. LIMFADENITIS TUBERCULOSIS**

##### **A.1 Limfadenitis Tuberkulosis (LnTB)**

Limfadenitis Tuberkulosis (LnTB) adalah suatu penyakit infeksi kronik yang disebabkan *M. tuberculosis* yang menyerang kelenjar getah bening (Suharyo, 2013). Basil *Mycobacterium tuberculosis* mempunyai ukuran cukup kecil yaitu 0,5-4 mikron x 0,3-0,6 mikron dan bentuk dari basil ini yaitu batang, tipis, lurus atau agak bengkok, bergranul, tidak mempunyai selubung tetapi kuman ini mempunyai lapisan luar yang tebal yang terdiri dari lipoid (terutama asam mikolat). Sifat dari basil ini agak istimewa, karena dapat bertahan terhadap pencucian warna dengan asam dan alkohol sehingga sering disebut dengan basil tahan asam (BTA). Selain itu basil ini juga tahan terhadap suasana kering dan dingin. Basil ini dapat bertahan pada kondisi rumah atau lingkungan yang lembab dan gelap bisa sampai berbulan-bulan namun basil ini tidak tahan atau dapat mati apabila terkena sinar, matahari atau aliran udara (Widoyono, 2011).

##### **A.2 Penularan**

Sumber penularan penyakit adalah penderita TB paru, pada waktu batuk atau bersin, bakteri menyebar ke udara lewat percikan sputum (droplet nuclei). Sekali batuk dapat menghasilkan sekitar 3000 percikan dahak. Umumnya penularan terjadi dalam ruangan dimana

percikan dahak berada dalam waktu yang lama. Percikan dapat bertahan selama beberapa jam dalam keadaan gelap dan lembab (WHO, 2018; Anton, 2008). Daya penularan ditentukan banyaknya bakteri yang dikeluarkan dari paru-paru penderita dan lamanya menghirup udara yang terinfeksi. Penyebab yang memungkinkan seseorang terinfeksi bakteri TB ditentukan oleh konsentrasi percikan dalam udara dan lamanya menghirup udara tersebut, daya tahan tubuh yang rendah, misalnya karena status gizi yang buruk atau terinfeksi oleh HIV atau AIDS (Kemenkes, 2014).

Kebersihan lingkungan dapat mempengaruhi penyebaran bakteri, misalnya rumah yang kurang baik dalam pengaturan ventilasi. Kondisi lembab akibat kurang lancarnya pergantian udara dan sinar matahari dapat membantu berkembangbiaknya bakteri, oleh karena itu orang sehat yang serumah dengan penderita TB Paru merupakan kelompok sangat rentan terhadap penularan penyakit tersebut. Lingkungan rumah, lama kontak serumah dan perilaku pencegahan baik oleh penderita maupun orang yang rentan sangat mempengaruhi proses penularan penyakit TB Paru (Randy, 2011). Basil *M. tuberculosis* pada penderita TB Paru dapat terlihat langsung dengan mikroskop apabila sediaan dahaknya menghasilkan BTA positif (sangat infeksius). Bakteri tidak dapat dilihat langsung dengan mikroskop apabila sediaan dahaknya menghasilkan BTA negatif (sangat kurang menular). Penderita TB BTA positif mengeluarkan bakteri-bakteri di udara dalam bentuk droplet

yang sangat kecil pada waktu bersin atau batuk. Droplet yang sangat kecil ini mengering dengan cepat dan menjadi droplet yang mengandung bakteri tuberkulosis dan dapat bertahan di udara selama beberapa jam (Suharyo, 2013).

### **A.3 Mycobacterium tuberculosis (MTB)**

MTB adalah bakteri berbentuk basil (batang), berukuran panjang 1-4  $\mu\text{m}$  dengan tebal 0,3-0,6  $\mu\text{m}$ . Sebagian besar komponen MTB adalah berupa lemak/lipid sehingga mampu tahan terhadap asam serta tahan terhadap zat kimia dan faktor fisik. Mikroorganisme ini bersifat aerob yakni menyukai daerah yang banyak oksigen. Oleh karena itu MTB senang tinggal di daerah aspek paru-paru yang kandungan oksigennya tinggi. Basil ini mempunyai sifat khusus yaitu tahan terhadap asam pada pewarnaan, oleh karena itu disebut sebagai Basil Tahan Asam (BTA). Basil ini cepat mati dengan sinar matahari langsung, tetapi dapat bertahan hidup beberapa jam ditempat yang gelap dan lembab. Dalam jaringan tubuh basil ini dapat menjadi dorman, tertidur lama selama beberapa tahun (Nurkaristna, 2012).

Morfologi MTB berbentuk batang lurus berukuran 0,4x3 $\mu\text{m}$ , pada medium artifisial, bentuk kokoid dan filamen terlihat dengan bentuk morfologi bervariasi dari satu spesies ke spesies yang lainnya (Jawets, 2008). Mikobakterium tidak dikelompokkan sebagai Gram positif atau Gram negatif. Setelah diwarnai dengan warna basa, warna tersebut tidak dapat dihilangkan dengan alkohol meskipun ditambahkan iodium. Bakteri tuberkel yang benar ditandai dengan

sifat tahan asam, sebagai contoh 95 % etil alkohol yang berisi 3 % asam hidroklorat (disebut asam alkohol) mendekolorisasi semua bakteri dengan cepat, kecuali Mikobakterium (Jawets, 2008). Sifat tahan asam tergantung pada lipid yang dimiliki oleh spesies Mikobakterium. Pewarnaan untuk mewarnai bakteri tuberkel adalah metode Ziehl Neelsen dan Kinyoun Gabbett dengan material pulasan sputum atau sebagian jaringan yang terinfeksi pada penderita tuberculosis. Selain itu ditunjukkan dengan fluoresensi kuning orange (jingga) setelah diwarnai dengan zat warna fluorokrom (misalnya : auramin, rhodamin) (Jawets, 2008).

Daya tahan bakteri tuberculosis lebih besar bila dibanding bakteri lainnya karena sifat hidrofobik pada permukaan selnya. Malachite green dapat membunuh bakteri lain tetapi tidak membunuh M. tuberculosis, demikian juga asam dan alkali, fenol 5% diperlukan waktu 24 jam untuk membunuh M. tuberculosis. Sputum kering yang melekat pada debu dapat tahan hidup 8–10 hari. Pengaruh pemanasan daya tahannya sama dengan bakteri lainnya, jadi dengan pasteurisasi bakteri M. tuberculosis ini sudah dapat dimatikan (Utji, 2013).

Perkembangan penyakit tergantung pada dosis bakteri yang masuk, daya tahan dan hipersensitivitas hospes. Ada dua kelainan patologi yang terjadi :

1. Tipe eksudatif, terdiri dari inflamasi yang akut dengan edema, sel-sel leukosit polimorfonuklear dan menyusul kemudian sel-sel

monosit yang mengelilingi bakteri *M. tuberculosis*. Kelainan terlihat terutama pada jaringan paru dan mirip pneumonia bakteri. Penyembuhan dapat terjadi secara sempurna sehingga seluruh eksudat diabsorpsi atau berubah menjadi nekrosis yang luas atau berubah menjadi tipe 2 (tipe produktif). Dalam masa eksudatif ini tuberkulin adalah positif (PDPI, 2011).

2. Tipe Produktif yaitu apabila sudah matang prosesnya lesi ini berbentuk granuloma yang kronik, terdiri dari tiga zona, yaitu:

1) Zona sentral dengan sel raksasa yang berinti banyak dan mengandung bakteri TB.

2) Zona tengah yang terdiri dari sel-sel epiteloid yang tersusun radial.

3) Zona luar yang terdiri dari fibroblas, limfosit dan monosit. Lambat laun zona luar akan berubah menjadi fibrotik dan zona sentral akan mengalami perkijuan. Kelainan seperti ini disebut tuberkel. Tuberkel yang berkeju dapat pecah ke dalam bronkus dan menjadi kaverna. Kesembuhan dapat terjadi melalui proses fibrosis atau perkapuran. Pada LnTB menjadi scrofuloderma (Utji, 2013).

#### **A.4 Gejala Klinik**

Gejala LnTB dibagi menjadi gejala umum dan gejala khusus yaitu adanya benjolan pada leher. Gejala sistemik atau umum antara lain demam tidak terlalu tinggi yang berlangsung lama, biasanya dirasakan malam hari disertai keringat dingin saat malam

hari. Serangan demam seperti influenza dan bersifat hilang timbul , penurunan nafsu makan dan berat badan, perasaan tidak enak (malaise), dan lemah.



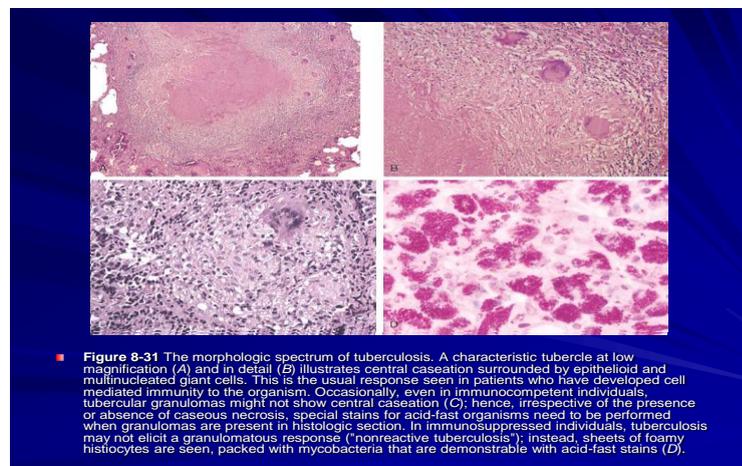
**Gambar 1 Benjolan Pada Leher (Dokumen pribadi)**

## **A.5 Diagnosis Penderita Limfadenitis TB**

### **1. Sitologi dan Histopatologi**

WHO dan PDPI menetapkan penegakan diagnosis extra paru termasuk LNTB dapat ditegakkan berdasarkan gejala klinis, pemeriksaan fisik, pemeriksaan bakteriologis dan atau gambaran sitologi/histopatologi berupa gambaran kelompok sel epitheliod yang membentuk struktur granuloma dengan latar belakang nekrosis kaseosa dan atau adanya sel datia langhan (PDPI 2015; Penanggulangan Nasional TB, 2011) namun terkadang sulit ditegakkan bila tidak didapatkan ketiga gambaran tersebut di atas sehingga membutuhkan tindakan open biopsi atau metode lain yang

membutuhkan waktu yang lebih lama dalam mendiagnosis LNTB. WHO juga telah mensahkan penggunaan genXpert untuk dapat cepat mendiagnosis MTB termasuk pada ekstra paru dan pada kasus anak-anak (WHO 2018, Habte Dereje et al, 2016). Selain dengan gambaran sitologi atau histology disertai dengan pemeriksaan bakteriologis hasil pemeriksaan mikroskopis langsung aspirat yang berasal dari LNTB atau sediaan hasil operasi dari LnTB.



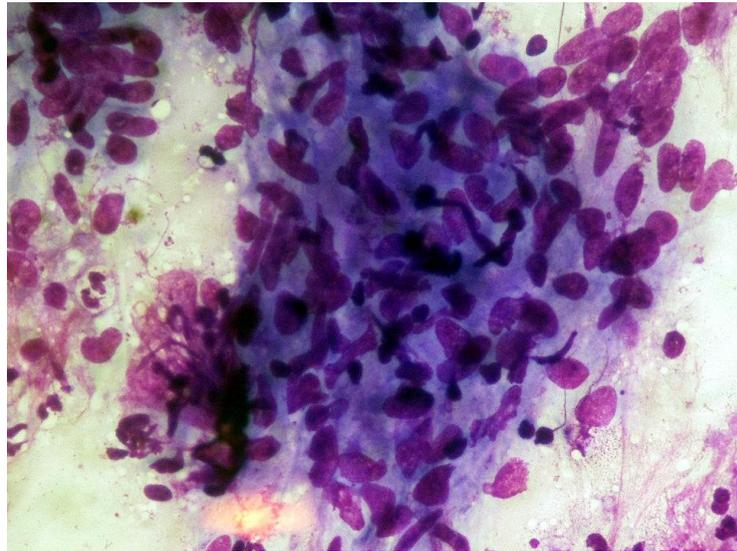
**Gambar 2 Limfadenitis Tuberculosis (Orrel Stevante, 2005; Koss, 2005)**



**Gambar 3 Aspirat FNAB yang dismeas pada objek glass (dokumen pribadi)**



**Gambar 4 Objek glass dengan aspirat FNAB (dokumen pribadi)**



**Gambar 5 sel epithelioid pada apusan aspirat FNAB(Orrrel, 2005)**

## **2. Bakteriologis**

Cara Ziehl Neelsen secara mikroskopis untuk diagnosis merupakan pemeriksaan yang mudah, cepat dan murah. Hasil yang baik didapatkan dengan membuat sediaan diwarnai dengan cara Tan Thiam Hok (Kinyoun -Gabbett) atau cara Ziehl-Neelsen. Pewarnaan tahan asam terlihat bakteri berwarna merah dan latar belakang berwarna biru, hasil positif ditentukan oleh jumlah bakteri 5.000-10.000/ml sampel dahak/sputum, hasil negatif belum tentu tidak ada bakteri. Daya mikroskop cahaya biasa sangat terbatas untuk dapat mendeteksi jumlah bakteriyang sedikit. Mikroskop fluoresens daya melihat diperbesar sedikit dengan luas pandangan yang lebih besar karena lensa obyektif yang lebih besar dan gambar yang terlihat cukup jelas karena berfluoresensi zat warna auramin rhodamin. Hasil positif secara

mikroskop tidak berarti diagnosis definitif (Utji, 2013). Ziehl Neelsen menggunakan warna utama karbol fuchsin dengan pemanasan dan biru methylen 1 % sebagai warna tandingan. Sekali sitoplasma bakteri terwarnai, maka sel-sel *M. tuberculosis* akan menahan zat warna tersebut dengan erat artinya tidak luntur meskipun zat tersebut bersifat keras, seperti asam alkohol (3 % HCl dalam ethanol 95%) yang merupakan pemucat intensif. Bakteri yang tahan terhadap zat warna setelah ditambah asam alkohol disebut "Basil Tahan Asam" dan berwarna merah setelah diwarnai. Warna karbol fuchsin yang mewarnai sel dengan mudah dapat dipucatkan atau dilunturkan oleh asam alkohol disebut bukan basil tahan asam dan berwarna biru setelah dilakukan pewarnaan. Hal terpenting dalam pengecatan Ziehl Neelsen adalah saat pemanasan dijaga jangan sampai terjadi pengeringan (Gandasoebrata, 2013). Hasil BTA positif dilaporkan secara kuantitatif dengan skala IUAT LD (International Union Against Tuberculosis Lung Disease).

### **3. Pemeriksaan Kultur**

Pemeriksaan kultur adalah perbenihan padat menggunakan media Kudoh atau Lowenstein Jensen, dimana media ini mengandung telur, gliserol, garam-garam mineral, malachite green dan dicampur dengan penicillin untuk membunuh bakteri lainnya. pH media antara 6,4 - 6,8. Setelah penambahan dengan NaOH bakteri langsung ditanam pada perbenihan dan dieramkan

pada suhu 37°C. Pertumbuhan bakteri aerob obligat tampak setelah 3 – 6 minggu. Koloni cembung, kering dan berwarna kuning gading (Girsang, et al., 2006).

#### **4. Pemeriksaan PCR**

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah suatu teknik sintesis dan amplifikasi DNA secara invitro. Teknik ini ditemukan oleh Kary B. Mullis dan F. Faloona pada tahun 1985. PCR didasarkan pada amplifikasi enzimatik fragmen DNA dengan menggunakan dua oligonukleotida primer yang komplementer dengan ujung 5' dari kedua untai sekuensi target. Oligonukleotida ini digunakan sebagai primer (primer PCR) untuk memungkinkan DNA template dicopy oleh DNA polymerase (Nasir, 2002). PCR melibatkan tiga tahap siklus temperatur yang berurutan yaitu denaturasi template (94–95°C), annealing (penempelan) pasangan primer pada untai ganda DNA target (50–60°C) dan pemanjangan (72°C) (Retnoningrum, 2001).

#### **5. Pemeriksaan GenXpert**

Pemeriksaan Xpert MTB/RIF assay (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA) adalah terobosan teknologi yang berdasarkan amplifikasi asam nukleoa yang dapat mendeteksi dna mtb complex dalam waktu kurang dari dua jam dan dapat pula mendeteksi adanya resisten pada rifamcin. Pemeriksaan genXpert ini dikembangkan oleh Prof David Allan di Universitas Medicine and Dentistry di New Jersey bekerjasama dengan Cepheid Inc dan Foundation for Innovative New diagnostic dengan dukungan financial dari National Institute of

Health. Pemeriksaan ini sudah disahkan WHO sejak tahun 2003 untuk digunakan rutin dilakukan pada penderita tb paru dengan radiologi positif pada sputum penderita. GenXpert memiliki sensitivitas sebesar 89% dan spesificitas sebesar 99% bila dibandingkan dengan pemeriksaan bta secara mikroskopis (WHO, 2018; Wikipedia, 2019). Sejak 2013 WHO memberikan arahan untuk dilakukan pemeriksaan genXpert pada ekstra paru termasuk pada LnTB (WHO, 2018) namun sampai saat ini belum dilakukan rutin di Indonesia.

## **6. Pengobatan TB Ekstra Paru**

TB ekstra paru adalah kasus TB yang terdiagnosis bakteriologis maupun klinis yang melibatkan organ selain paru, seperti pleura, kelenjar getah bening, abdomen, traktus genitorinarius, kulit, tulang, sendi, dan selaput otak. Pasien dengan diagnosis TB paru dan ekstra paru dinotifikasi atau dilakukan pencatatan dan pelaporan sebagai kasus TB paru. Diagnosis dibuat berdasarkan satu spesimen dengan biakan/mikroskopis/Tes molekuler positif atau histologi atau bukti klinis kuat yang konsisten dengan tuberkulosis ekstra paru dan diikuti keputusan klinisi untuk memulai terapi antituberkulosis. Biopsi jaringan dan aspirasi jarum halus bertujuan untuk mendapatkan bahan yang cukup untuk diagnosis. Uji cepat dengan TCM TB MTB/RIF untuk *M. tuberculosis* pada spesimen ekstraparu digunakan untuk membantu menegakkan

diagnosis TB ekstra paru pada cairan serebrospinalis, jaringan biopsi, aspirat dan bilasan cairan lambung.

Pemeriksaan yang dianjurkan untuk diagnosis tuberkulosis ekstra paru adalah Ultrasonografi (USG), computed tomography (CT), magnetic resonance imaging (MRI), biopsi pada lokasi kgb terkait biakan/mikroskopis/TCM/histopatologi pleura dan bronkoskopi pleura dan cairan pleura.

Secara umum pengobatan TB pada ekstra paru lebih dari 6 bulan, pada beberapa kasus bahkan dapat diberikan sampai 18 bulan. Pada prinsipnya fase intensif pada ekstra paru sama dengan TB paru yaitu 2 bulan, sedangkan untuk fase lanjutan dapat diperpanjang.

### **Obat-obat antituberkulosis**

Isoniazid (INH) merupakan obat yang cukup efektif dan murah. Seperti rifampisin, INH harus diberikan dalam setiap regimen pengobatan, kecuali bila ada kontraindikasi. Ditemukan oleh Domagk pada tahun 1952. Ini adalah salah satu obat antituberkulosis paling efektif yang digunakan saat ini. Ini adalah prodrug yang membutuhkan aktivasi sebelum bertindak. Ini aktif secara oral dan menunjukkan tindakan bakterostatik pada basil istirahat dan sangat aktif melawan kompleks *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti* dan *M. avium*). Ini bertindak dengan mencegah biosintesis asam mikolat yang ada dalam basil tuberkel

dengan memengaruhi enzim mycolate synthetase, unik untuk mikobakteri.

Efek samping yang sering terjadi adalah neuropati perifer yang biasanya terjadi bila ada faktor-faktor yang meningkatkan risiko seperti diabetes melitus, alkoholisme, gagal ginjal kronik dan malnutrisi dan HIV. Efek ini dapat dikurangi dengan pemberian piridoksin 5-10 mg/hari. Efek samping lain seperti hepatitis dan psikosis sangat jarang terjadi.

Rifampisin merupakan komponen kunci dalam setiap regimen pengobatan. Sebagaimana halnya INH, rifampisin juga sebaiknya selalu diikuti kecuali bila ada kontraindikasi. Pada dua bulan pertama pengobatan dengan rifampisin, sering terjadi gangguan sementara pada fungsi hati (peningkatan transaminase serum), tetapi biasanya tidak memerlukan penghentian pengobatan. Kadang-kadang terjadi gangguan fungsi hati yang serius yang mengharuskan penggantian obat terutama pada pasien dengan riwayat penyakit hati. Selama fase intermiten (fase lanjutan) dilaporkan adanya 6 gejala toksisitas: influenza, sakit perut, gejala pernafasan, syok, gagal ginjal, purpura trombositopenia, dialami oleh 20-30% pasien. Rifampisin menginduksi enzim-enzim hati sehingga mempercepat metabolisme obat lain seperti estrogen, kortikosteroid, fenitoin, sulfonilurea dan antikoagulan; interaksi: lihat Lampiran 1. Penting: efektivitas kontrasepsi oral akan berkurang sehingga perlu dipilih cara KB yang lain.

Pirazinamid bersifat bakterisid dan hanya aktif terhadap kuman intrasel yang aktif membelah dan *Mycobacterium tuberculosis*. Efek terapinya nyata pada dua atau tiga bulan pertama saja. Obat ini sangat bermanfaat untuk TB meningitis karena penetrasinya ke dalam cairan otak. Tidak aktif terhadap *Mycobacterium bovis*. Toksisitas hati yang serius kadang-kadang terjadi.

Etambutol disintesis oleh Wilkinson pada tahun 1961 adalah alkohol amino sintesis, agen bakteriostatik yang efektif secara oral. Ini efektif terhadap semua jenis strain *Microbacterium*. Kerjanya dengan mengganggu biosintesis asam mikolat di dinding sel. digunakan dalam regimen pengobatan bila diduga ada resistensi. Jika risiko resistensi rendah, obat ini dapat ditinggalkan. Untuk pengobatan yang tidak diawasi, etambutol diberikan dengan dosis 25 mg/kg bb/hari pada fase intensif dan 15 mg/kg bb/hari pada fase lanjutan (atau 15 mg/kg bb/hari selama pengobatan). Pada pengobatan intermiten di bawah pengawasan, etambutol diberikan dalam dosis 30 mg/kg bb 3 kali seminggu atau 45 mg/kg bb 2 kali seminggu. Efek samping etambutol yang sering terjadi adalah gangguan penglihatan dengan penurunan visus, buta warna dan penyempitan lapang pandang. Efek toksik ini lebih sering bila dosis berlebihan atau bila ada gangguan fungsi ginjal. Gangguan awal penglihatan bersifat subjektif. Bila hal ini terjadi maka etambutol harus segera dihentikan sehingga diharapkan fungsi penglihatan akan pulih. Obat

ini tidak dianjurkan untuk diberikan jika pasien tidak dapat mendeteksi perubahan visus yang terjadi. Pemberian pada anak sebaiknya dihindari sampai usia 5 tahun, yaitu di saat mereka bisa melaporkan gangguan penglihatan. Pemeriksaan fungsi mata dianjurkan dilakukan sebelum pengobatan.

Streptomisin saat ini semakin jarang digunakan, kecuali untuk kasus resistensi. Obat ini diberikan secara intramuskuler dengan dosis 15 mg/kg bb, maksimal 1 gram perhari. Untuk berat badan kurang dari 50 kg atau usia lebih dari 40 tahun, diberikan 500-750 mg/hari. Untuk pengobatan intermiten yang diawasi, streptomisin diberikan 1 g tiga kali seminggu dan diturunkan menjadi 750 mg tiga kali seminggu bila berat badan kurang dari 50 kg. Untuk anak diberikan dosis 15-20 mg/kg bb/ hari atau 15-20 mg/kg bb tiga kali seminggu untuk pengobatan yang diawasi. Kadar obat dalam plasma sebaiknya diukur terutama untuk pasien dengan gangguan fungsi ginjal. Efek samping akan meningkat setelah dosis kumulatif 100 g, yang hanya boleh dilampaui dalam keadaan yang sangat khusus. Obat-obat sekunder diberikan untuk TB yang disebabkan oleh kuman yang resisten, atau bila obat primer menimbulkan efek samping yang tidak bisa ditoleransi. Termasuk obat sekunder adalah sikloserin, makrolida generasi baru (azitromisin dan klaritromisin), dan kuinolon (siprofloksasin dan ofloksasin).

## **B. Pengobatan Limfadenitis Tuberkulosis**

Tuberkulosis limfadenopati dapat mengenai semua usia terutama pada usia 10-30 tahun, lebih sering pada wanita. Gejala konstitusional terjadi pada 33-85% pasien. Diagnosis ditegakkan melalui aspirasi jarum halus atau biopsi kelenjar. Pada sediaan dari aspirasi jarum halus atau biopsi dapat ditemukan inflamasi granulomatous kaseosa dengan sel datia langhans. Gejala sesuai dengan lokasi kelenjar limfe yang terkena diantaranya tuberkulosis limfadenopati perifer yang paling sering menyerang pada daerah servikal posterior, anterior dan fossa - 69 - supraklavikula, juga dapat menyerang daerah aksila, inguinal, submandibular, dan kadang-kadang preaurikula atau kelenjar sub mental dan kelenjar intramamari. Selain itu juga dapat ditemukan TB limfadenopati mediastinal serta mesentrik. Pengobatan TB limfadenopati sama dengan pengobatan TB paru yaitu 2RHZE/4RH akan tetapi durasi yang bervariasi 6 sampai 12 bulan tergantung kondisi klinis. Eksisi bedah dipertimbangkan pada limfadenopati yang memberikan gejala klinis simptomatis dan kasus resistensi obat.

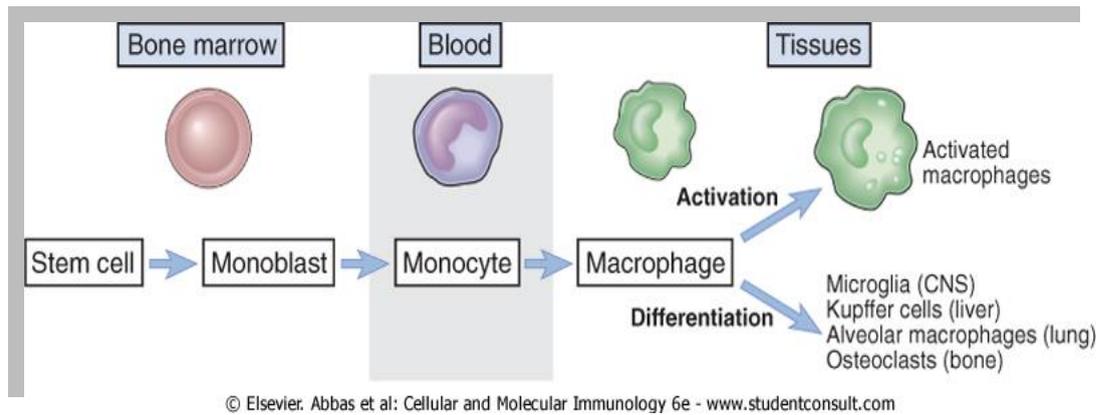
## **C. MAKROFAG**

Makrofag adalah sel darah putih yang berukuran besar, yang mencerna mikroba, antigen dan zat-zat lainnya. Sitoplasma makrofag mengandung beberapa granula dan melepaskan berbagai bahan, antara lain enzim lisosom, komplemen, interferon dan sitokin yang semuanya memungkinkan mencerna dan menghancurkan mikroba

yang tertelan oleh makrofag. Makrofag tidak ditemukan di dalam darah, tetapi terdapat di tempat-tempat strategis, dimana organ tubuh berhubungan dengan aliran darah atau organ luar. Misalnya makrofag ditemukan di daerah dimana paru-paru menerima udara dari luar dan sel-sel hati berhubungan dengan pembuluh darah (Baratawidjaja, 2012). Makrofag ini termasuk sistem fagosit mononuklear, makrofag dulu disebut dengan *Retikulo Endotelial System* (RES), untuk sel-sel yang sangat fagositik yang tersebar luas di seluruh tubuh terutama pada daerah yang kaya akan pembuluh darah (Efendi, 2003).

### **1. Perkembangan Makrofag**

Makrofag terutama berasal dari sel prekursor sum-sum tulang dari promonosit yang akan membelah menghasilkan monosit yang beredar dalam darah. Pada tahap kedua monosit bermigrasi ke dalam jaringan ikat tempat mereka menjadi matang disebut makrofag. Di dalam jaringan, makrofag dapat berproliferasi secara lokal menghasilkan sel sejenis lebih banyak. Keberadaan sel-sel sistem makrofag terdapat pada jaringan ikat longgar berupa makrofag atau histiosi, di dalam darah berupa monosit, dalam hati melapisi sinusoid dikenal sebagai sel kupffer, makrofag perivaskular sinusoid limfa, limfonodus dan sum-sum tulang dan pada susunan syaraf pusat berupa microglia berasal dari mesoderm.



**Gambar 6** Gambaran macrfag dari sumsum tulang sampai dengan jaringan

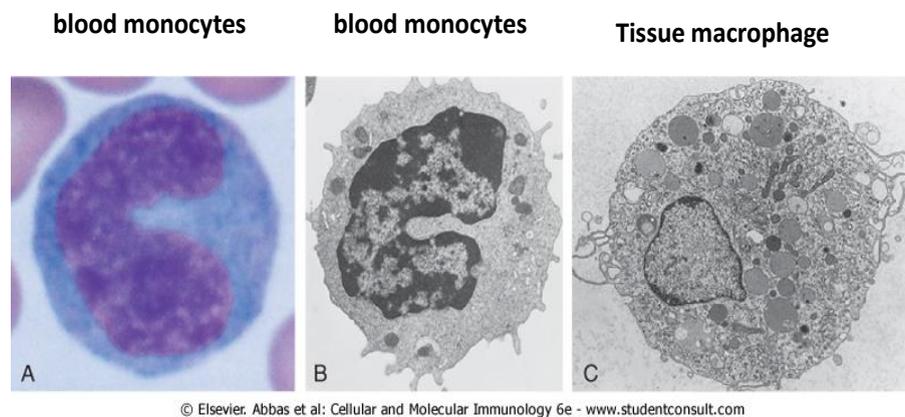


Figure 2-6 **Morphology of mononuclear phagocytes.** A. Light micrograph of a monocyte in a peripheral blood smear. B. Electron micrograph of a peripheral blood monocyte. (Courtesy of Dr. Noel Weidner, Department of Pathology, University of California, San Diego.) C. Electron micrograph of an activated tissue macrophage showing numerous phagocytic vacuoles and cytoplasmic organelles. (From Fawcett DW. Bloom & Fawcett's Textbook of Histology, 12th ed. Chapman & Hall, 1994. With kind permission of Springer Science and Business Media.)

**Gambar 7** Gambaran macrfag dari sumsum tulang sampai dengan jaringan

## **2. Mekanisme Kerja Makrofag**

Fagositosis merupakan suatu proses atau cara untuk memakan mikroorganisme atau benda asing yang dilakukan dimana setelah benda asing melekat pada permukaan makrofag sehingga makrofag membentuk sitoplasma dan melekat ke dalam membungkus bakteri atau benda tersebut. Tonjolan sitoplasma (pseudopodia) yang saling bertemu itu akan melebur menjadi satu sehingga benda asing atau bakteri akan tertangkap di dalam sebuah vakuola fagostik intrasel. Enzim lisosom merupakan sistem pencernaan intrasel makrofag dengan kemampuan memecah materi yang berasal dari luar maupun dari dalam. Jadi lisosom akan menyatu dengan vakuola akan memusnahkan bakteri atau benda asing tersebut (Efendi, 2003).

## **3. Fungsi dari makrofag**

Sifat fagositik atau gerakan amuboidnya aktif dalam pertahanan tubuh terhadap mikroorganisme, memiliki reseptor untuk immunoglobulin pada membran selnya. Makrofag mempunyai fungsi utama memakan partikel (fagositosis) dan dicerna oleh lisosom dan menjalankan sederetan substansi yang berperan dalam fungsi pertahanan dan perbaikan. Dalam sistem imun tubuh, sel ini berperan serta dalam mempengaruhi aktivitas dari respon imun, mereka menelan, memproses dan menyimpan antigen dan menyampaikan informasi pada sel-sel berdekatan secara imunologis kompeten (limfosit dan sel plasma). Makrofag yang aktif merupakan

sel sekretori yang dapat mengeluarkan beberapa substansi penting termasuk enzim lisozim, elastase, kolagenase, dua protein dari sistem komplemen dan agen anti virus yaitu interferon(Kresno, 2001; Efendi, 2003)

#### **4. Aktivasi Makrofag**

Pada hakekatnya makrofag terlibat dalam semua stadium respon imun, dimulaidengan makrofag menangkap antigen kemudian memprosesnya lalu menyajikan antigen yang telah diproses dan diikat pada MHC kelas II kepada sel T-helper (Th). Dengan demikian makrofag berfungsi mengaktivasi limfosit. Sel Th teraktivasi memproduksi berbagai faktor kemotaktik yang menarik lebih banyak makrofag, granulosit dan limfosit. Setelah mengaktivasi limfosit, peran makrofag selanjutnya adalah meningkatkan proses inflamasi, tumorisidal dan mikrosidal. Aktivitas makrofag dipengaruhi oleh *Macrophage Activating Factor* (MAF), IFN-gamma (Interferon gamma) dan IL-3 (Interleukin 3) yang disekresikan oleh sel T (Kresno, 2001).

#### **D. Natural Resistance Associate Macrophage Protein-1 (NRAMP-1)**

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).

Makrofag merupakan sebuah sel integral yang melawan agen mikroorganisme patogen intraselluler dan NRAMP-1 memiliki peran yang signifikan dalam fase awal interaksi antara makrofag dan patogen. Gen NRAMP-1 mempengaruhi banyak fungsi yang penting dalam pengaktifan makrofag meliputi up-regulasi, kemokin (KC), sitokin, histokompatibel kompleks utama (MHC) kelas II, aktivasi respirasi, apoptosis, dan ekspresi sitokin lainnya (Stober, et al, 2007). Mekanisme langsung oleh efek NRAMP-1 pada fungsi makrofag ini tidaklah begitu jelas. Namun gen NRAMP-1 ini dapat menyandi suatu membran protein integral yang dilokalisasi pada endosomal dan kompartemen lisosomal dalam makrofag. Gen NRAMP-1 berfungsi sebagai pengangkut ion logam yang mengatur tingkat seluler yang mungkin membatasi replikasi patogen intraseluler dengan mengubah lingkungan fagolisosomal (Dustan, et al., 2001).

Gen NRAMP-1 menyandi suatu divalen kation pengangkut protein yang dilibatkan dalam kendali replikasi intraphagosomal patogen intraseluler dan aktivasi makrofag. Ada banyak studi tentang hubungan antara gen NRAMP-1 dan berbagai penyakit yang terkait dengan kekebalan seperti Mycobacteriosis, Salmonellosis dan

Leshmaniasis. Namun hubungan itu belum begitu jelas (Blackwell JM, 2001).

Pada tikus, kerentanan untuk infeksi dengan patogen intraseluler seperti *Salmonella typhimurium*, *Mycobacterium* dan *Leishmania* dikontrol oleh gen NRAMP-1 pada kromosom 1, yang mana pengaruhnya jarang terjadi pada replikasi parasit intraseluler di makrofag. Gen NRAMP-1 dikode pada membran protein integral yang diekspresikan dalam leukosit makrofag / monosit dan polimorfonuklear. Dimana pada protein dilokalisasi dalam lisosomal diruangan makrofag dengan cepat dihancurkan dalam partikel membran fagosom pada proses fagositosis. Gen NRAMP-1 berfungsi sebagai pengangkut pH-dependen dan mempunyai efek pleiotropik terhadap berbagai efektor terkait sistem kekebalan untuk memudahkan penghancuran atau pembunuhan bakteri (Techau ME, et al, 2007).

Gen NRAMP-1 ini pada manusia sama dengan gen NRAMP-1 murine terutama dalam hal resistensinya terhadap parasit intraseluler termasuk *Bacillus calmette Guerin*, *Leishmania* dan *Salmonella*. Dimana NRAMP-1 ini mengkode pula ion transporter yang diletakkan di membran lisosom selama fagositosis dari *Mycobacteria* dan patogen lainnya (Gruenheid S et al, 1997).

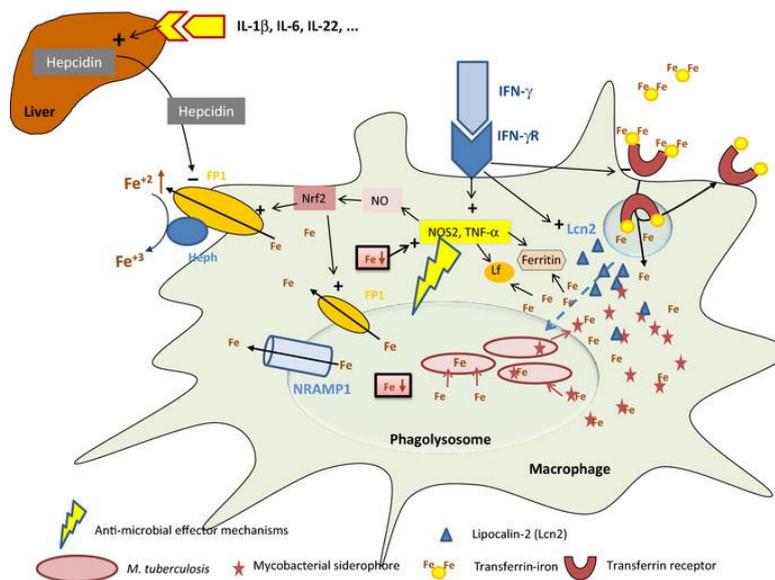
Canonne-Hergaux et al, (2002) mengatakan antibodi poliklonal dihasilkan gen NRAMP-1 untuk melawan kuman yang menginfeksi manusia dan menggunakan reagen untuk dilokalisasikan pada protein seluler dan subseluler di dalam neutrofil manusia. Kemungkinan fungsi

NRAMP-1 di dalam neutrofil yakni berhubungan dengan NRAMP-1 yang memiliki kepekaan terhadap penyakit seperti lepra dan penyakit penyebab radang seperti arthritis rheumatoid.

Daerah kromosomal NRAMP-1 pada tikus terdapat pada kromosom 1 sedangkan manusia pada kromosom 2q35. Pada manusia, lokasi yang paling tinggi ekspresi NRAMP-1 yaitu daerah sekeliling leukosit dan paru-paru. Sejumlah varian polimorfik telah digunakan untuk mempelajari asosiasi NRAMP-1 dan kepekaannya terhadap penyakit TB dan lepra. Studi dilakukan untuk mengukur asosiasi NRAMP-1 terhadap penyakit TB pada suatu populasi Gambia (Afrika barat) dimana dari hasil varian polimorfik menunjukkan bahwa gen NRAMP-1 mempengaruhi kepekaan terhadap beberapa penyakit (Kishi F et al, 1999).

Beberapa fungsi NRAMP-1 pada infeksi mikroba yakni mengatur pengaktifan makrofag pada infeksi dan penyakit autoimun. Sedangkan NRAMP-2 mengendalikan penyakit anemia. Kedua-duanya adalah pengangkut divalen kation ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , dan  $\text{Mn}^{2+}$ ), NRAMP-2 merupakan suatu simporter  $\text{H}^+$  dan ion logam, sedangkan NRAMP-1 adalah suatu antiporter  $\text{H}^+$  atau divalen kation. Hal ini menyediakan suatu model untuk ion logam homeostasis di dalam makrofag. NRAMP-2 dilokasi awal endosom dengan ekstraseluler memperoleh divalen kation ke dalam sitosol. NRAMP-1 dilokasi untuk memperlambat proses lisosom yang membawa divalen kation dari sitosol ke fagolisom. Pada ion  $\text{Fe}^{2+}$  menghasilkan antimikrobia hidrosil yang

radikal pada reaksi Fenton. Ion  $Zn^{2+}$  dan  $Mn^{2+}$  dapat juga mempengaruhi aktivitas endosomal menghasilkan metalloprotease dan penghancuran fagolisosom. Kebanyakan seluler berfungsi pada dependen ion logam sebagai kofaktor dapat menjelaskan berbagai efek NRAMP-1 pleiotropik dan berperan pada infeksi penyakit autoimun (Yang YS et.al., 2000).



**Gambar 8 Mekanisme gen NRAMP-1 menghambat pertumbuhan bakteri dalam sel makrofag (Weiss, 2015)**

Makrofag menggunakan banyak jalur untuk menghambat perkembangan bakteri intraseluler yang menggunakan zat besi sebagai faktor pertumbuhannya. Jalur pertama ialah melalui sitokin seperti IFN-gamma yang menghambat ekspresi transkripsi reseptor transferin (TfR). TfR adalah sumber utama zat besi untuk mycobacteria, karena bakteri dapat memanfaatkan ligannya, besi transferin, mengikuti transfer endosomal. Makrofag menghasilkan lipocalin-2 (Lcn2), yang mengikat dan menetralkan siderophores yang

dihasilkan oleh *M. tuberculosis* untuk mengumpulkan dan menggunakan kembali zat besi yang ada pada sitoplasma.

Selanjutnya, makrofag yang menghasilkan sitokin seperti TNF- $\alpha$  akan menginduksi pembentukan feritin protein pengikat zat besi dan menggabungkan zat besi ke dalam inti tidak tersedia untuk bakteri intraseluler serta lactoferrin protein yang mengikat besi (Lf), yang juga mengambil logam ini. Makrofag aktif mengekspresikan protein phagolysosomal NRAMP-1, yang di antara efek lainnya memompa besi dari makrofag, sehingga mengurangi ketersediaan logam di phagosome untuk mycobacteria. Akhirnya, pada pembentukan nitrit oksida, faktor transkripsi dari nuclear factor erythroid2-related factor-2 (Nrf2) akan diaktifkan dan akan merangsang ekspresi utama ekspor protein ferroportin (FP1) yang akan memompa besi keluar dari phagolysosome dan dari sitoplasma makrofag (Weiss, 2015).

Dengan mekanisme yang tetap sulit dipahami, stimulasi ekspresi hepcidin di hati, yang merupakan mekanisme utama untuk pembatasan zat besi untuk ekstraseluler pathogen bakteri dapat dicegah. Semua kejadian ini menghasilkan penurunan kadar zat besi intraseluler dan terbatasnya ketersediaan zat besi untuk intramakrofag dari bakteri.

Berdasarkan efek regulasi negatif dari besi pada aktivitas IFN- $\gamma$ , pengurangan dalam ketersediaan logam ini menghasilkan penurunan respon imun terhadap mikroba. Mekanisme tersebut di atas

telah diteliti pada bakteri intraseluler lainnya seperti *S. typhimurium*, dan *M. tuberculosis* (Weiss, 2015).

Gen NRAMP-1 mengkode makrofag polipeptida spesifik yang diprediksi dalam gambaran karakteristik pada membran protein integral. Analisis urutan nukleotida NRAMP 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 manusia. Analisis urutan diindikasikan pada polipeptida manusia yaitu 550 asam amino membran protein dalam 10 sampai 12 yang diduga termasuk domain transmembran (Liu J et al, 1995). Kishi F (1999) mengisolasi cDNA yang mengkode NRAMP 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 NRAMP-1 yang dihubungkan dengan kepekaan fenotipe. Hubungan antara NRAMP-1 dan kepekaan pada patogen intraseluler yang ditetapkan berdasarkan konstruksi dari NRAMP-1 tikus dan resistensi alel transgenik (NRAMP-1G169) ini peka pada alel tikus (NRAMP-1D169). Pada *typhimurium*, kepekaan alel NRAMP-1 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 DE, et al, 2013 ). Cellier MF (2013)

mengatakan gen NRAMP berisi sedikitnya 15 exon dan 1 exon disandikan oleh asam amino Ala yang ada di dalam intron 4. Menurut Blackwell dkk. (1995) bahwa gen NRAMP manusia memutar 12 kb dan mempunyai 15 exon. Pada tahap transkripsi, lokasi inisiasi memetakan 148 bp pada proses translasi di kodon inisiasi.

Liu J, et al. (1995) mengidentifikasi 9 urutan varian exon yang dihubungkan dengan gen NRAMP. 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 NRAMP-1 pada 1.5-MB YAC. Marker molekular ini berperan pada NRAMP-1 di dalam kepekaan terhadap penyakit tuberculosis dan makrofag lain.

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). 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

immun selular dengan melisis dan membunuh benda-benda asing (Jabado, *et al.*, 2000; Larhammar, *et al.*, 2002; Roig, *et al.*, 2002).

Pada manusia, polimorfisme yang terbentuk oleh gen NRAMP-1 diduga ada hubungannya dengan *M. tuberculosis* dan leprosy. Gen NRAMP-1 disimpan pada suhu 4°C dan tidak boleh dibekukan serta dapat bertahan stabil dalam penyimpanan selama satu tahun (Anonim, 2002).

Sejumlah variasi polimorfisme dapat digunakan untuk mempelajari hubungan antara gen NRAMP-1 dengan beberapa penyakit seperti leprosy dan tuberkulosis. Salah satu penelitian dasar untuk menganalisa gen NRAMP-1 pada 160 individu dari Vietnam menunjukkan bahwa gen NRAMP-1 memiliki hubungan dengan penyakit leprosy. Pada penelitian lain, hubungan gen NRAMP-1 dengan uji klimaks tuberkulosis 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)

**Tabel 1. tinjauan pustaka NRAMP-1**

No	Lokasi Studi	Jumlah Subjek	Metode	Hasil Penelitian	Referensi
1	Mexico City, Mexico	8 sapi holstein dengan positif TB bovine dan 3 sapi holstein sebagai kontrol sehat	Western Blot	Terdapat hubungan antara TB bovine dengan peningkatan ekspresi NRAMP-1 dalam pertahanan melawan <i>M. bovis</i>	(Pereira-Suárez <i>et al.</i> , 2006)

2	Laboratorium MRC, The Gambia, Afrika Barat	1139 partisipan dengan klinis HIV	Polyacrylamide Gel Electrophoresis (PAGE)	Tidak ditemukan hubungan yang signifikan antara pengaruh genotip SLC11A1 dengan kerentanan TB pada pasien koinfeksi HIV	(McDermid <i>et al.</i> , 2013)
3	Ghana, Afrika Barat	191 pasien TB dan 235 kontrol sehat	TaqMan® SNP Genotyping Assay	Terdapat hubungan signifikan antara M. Africanum dengan gen SLC11A1	(Asante-Poku <i>et al.</i> , 2022)
4	Makassar, Indonesia	30 pasien TB aktif, 27 pasien TB laten dan 33 kontrol sehat	RT-PCR dan ELISA	Terdapat hubungan antara ekspresi gen NRAMP-1 terhadap infeksi TB	(Handayani <i>et al.</i> , 2021)
5	Mexico City, Mexico	8 sapi ternak dengan tanda klinis PTB dan 2 sapi ternak kontrol sehat	Immunohistochemistry (IHC)	Terdapat hubungan antara NRAMP-1 dengan PTB	(Delgado <i>et al.</i> , 2010)
6	Spanyol	23 sapi ternak betina	Immunohistochemistry (IHC)	Terdapat hubungan antara NRAMP-1 dengan PTB Bovine	(Fernández <i>et al.</i> , 2017)
7	Nueva Ecija, Philippines	190 kerbau sungai dan 18 kerbau rawa	PCR	Terdapat hubungan antara NRAMP-1 dengan infeksi mycobacterium	(Mingala <i>et al.</i> , 2013)
8	Casablanca, Morocco	211 pasien positif TB paru	PCR-RFLP	TB paru tidak berhubungan secara signifikan dengan NRAMP-1	(El Baghdadi <i>et al.</i> , 2003)
9	Chad, Africa	249 sapi zebu	PCR-RFLP	Terdapat hubungan yang signifikan antara TB bovine dengan NRAMP-1 untuk mengontrol penyebaran Mycobacterium Bovis dalam keturunannya	(Ali <i>et al.</i> , 2009)
10	Moscow, Russia	Tikus dengan positif infeksi M. Avium strain 724	PCR-RFLP	Terdapat hubungan yang signifikan antara M. avium dengan gen SLC11A1	(Kondratieva <i>et al.</i> , 2007)

## **E. VITAMIN D**

### **1. Sumber Vitamin D**

Sumber utama vitamin D dalam tubuh adalah dari kulit. Kulit mampu mensintesis vitamin D sendiri. Kulit mengandung 7-Dehidrokolestrol yang jika terpajan sinar UVB akan mengalami reaksi enzimatik dan menghasilkan pro-vitamin D. Pro vitamin D tersebut akan diproses oleh tubuh menjadi bentuk aktif vitamin D dan selanjutnya digunakan sesuai fungsinya. Vitamin D juga dapat diperoleh dari beberapa makanan, meskipun perolehan vitamin D dari sintesisnya di kulit masih jauh lebih banyak daripada vitamin D yang dapat diperoleh dari makanan. Berjemur selama 30 menit dibawah sinar matahari dapat memproduksi sekitar 20.000 IU vitamin D, yang setara dengan 200 gelas susu (100IU/8 oz) atau 50 tablet multivitamin (400 IU/tablets). Menurut Associations of UK Dietitians, Sumber utama vitamin D pada makanan antara lain ikan salmon, ikan lele, ikan trout, cod liver oil, telur, dan susu yang diperkaya vitamin D.

### **2. Metabolisme Vitamin D**

Vitamin D adalah steroid larut lemak yang disintesis dari prekursor kolesterol (7-dehydrokolesterol), memiliki struktur kimia secosteroid. Bentuk terbesar vitamin D yang penting pada manusia adalah vitamin D<sub>2</sub> atau ergocalciferol, yang disintesis dari ergosterol tanaman dan vitamin D<sub>3</sub> atau cholecalciferol yang disintesis secara alami dari kolesterol hewan (vitamin D<sub>3</sub>). Vitamin D

dapat bersumber dari makanan dan produk-produk suplemen vitamin D, selain sumber-sumber lainnya. Bagaimanapun, sumber utama vitamin D pada tubuh manusia adalah sintesisnya di kulit. Kulit mengandung suatu zat perantara dalam sintesis kolesterol yang menumpuk disebut 7-Dehidrokolesterol. Dengan pajanan sinar UVB, zat ini akan mengalami reaksi enzimatik dan akhirnya dihasilkan pra-vitamin D. Pajanan lebih lanjut dapat mengubah pra vitamin D menjadi bentuk inaktif. Selain menjadi inaktif, terjadi juga perubahan menjadi vitamin D<sub>3</sub> atau kolekalsiferol. Kolekalsiferol akan masuk sirkulasi dan akhirnya sampai ke hati untuk proses hidroksilasi pertama. Di hati, kolekalsiferol berubah menjadi 25(OH)D atau kalsidiol. Selanjutnya kalsidiol akan kembali masuk peredaran. Di ginjal, Kalsidiol mengalami hidroksilasi kedua menjadi bentuk aktifnya yaitu 1,25(OH)<sub>2</sub>D atau kalsitriol oleh enzim 1-16 alfa hidroksilase. 1,25(OH)<sub>2</sub>D selanjutnya akan meningkatkan absorpsi kalsium di usus serta meningkatkan ekspresi osteoblast menjadi osteoclast pada tulang. Proses ini meningkatkan jumlah kalsium yang beredar di darah. Jika jumlah kalsium pada darah mencapai jumlah yang adekuat, akan terjadi negative feedback, dimana kadar 1,25(OH)<sub>2</sub>D akan berkurang, menyebabkan pengurangan sekresi hormone paratiroid, sehingga mengurangi ekspresi enzim 1-alfa hidroksilasi di ginjal. 1,25(OH)<sub>2</sub>D di darah juga dikurangkan dengan adanya peningkatan ekspresi enzim 24-OHase yang mengubah bentuk aktif vitamin D ini menjadi calcitriol acid.

Calcitriol acid merupakan suatu bentuk inaktif yang akan diekskresi melalui empedu (Hermann et al, 2017) Proses pengaktifan vitamin D menjadi  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  tidak hanya terjadi di ginjal, melainkan di organ-organ lain yang memiliki enzim untuk melakukan hidroksilasi kalsidiol. Organ-organ tersebut mampu menghasilkan bentuk aktif vitamin D nya sendiri dan digunakan sesuai kebutuhan masing-masing organ. Karena itu vitamin D sangat menentukan keberlangsungan fungsi banyak organ, mencerminkan betapa pentingnya vitamin D untuk pertahanan tubuh.

### **3. Fungsi Vitamin D**

Definisi vitamin adalah suatu senyawa organik yang harus ada pada diet dalam jumlah kecil untuk mempertahankan integritas metabolik normal karena vitamin umumnya tidak disintesis oleh tubuh. Namun tidak halnya dengan vitamin D. Vitamin D tidak memenuhi definisi tersebut. Vitamin D tidak hanya suatu vitamin, tapi juga adalah sebuah hormon. Vitamin D dapat disintesis di kulit dan pada kebanyakan kondisi merupakan sumber utama vitamin D. Fungsi utama vitamin D adalah mengatur penyerapan kalsium dan homeostasis, namun itu hanya fungsi endokrinnya saja. Vitamin D memiliki fungsi autokrin yaitu sebagai alat pertahanan tubuh. Enzim untuk menghidroksilasi  $25\text{-(OH)D}$  menjadi  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  tidak hanya ada di ginjal, melainkan ada di hampir semua jaringan. Jadi semua jaringan dapat membentuk bentuk aktif vitamin D sendiri

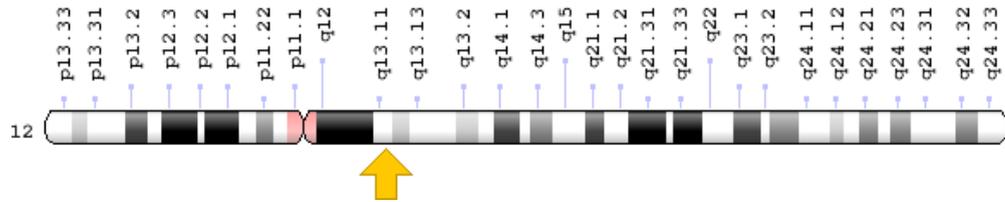
dan difungsikan sesuai kebutuhan masing-masing jaringan. Bentuk aktif vitamin D, 1,25(OH)<sub>2</sub>D, atau kalsitriol, mengontrol homeostasis kalsium melalui tiga cara: meningkatkan penyerapan kalsium di usus, mengurangi ekskresi kalsium dengan merangsang penyerapan di tubulus distal ginjal, dan memobilisasi mineral tulang. Selain mengatur homeostasis kalsium, kalsitriol juga memiliki peran di banyak jaringan tubuh lain seperti sekresi insulin, sintesis dan sekresi hormonparatiroid dan tiroid, inhibisi pembentukan IL oleh limfosit T aktif dan immunoglobulin oleh limfosit B aktif, diferensiasi sel precursor monosit, dan modulasi proliferasi sel. Pada kebanyakan efek ini, vitamin D berfungsi layaknya hormone steroid, berikatan dengan reseptor di nukleus dan meningkatkan ekspresi gen. Salah satu hasil dari peningkatan ekspresi gen oleh vitamin D yang paling penting adalah untuk pembentukan Cathelicidin, sebuah protein antimicrobial yang dibentuk oleh tubuh untuk fungsi pertahanan tubuh. Defisiensi Cathelicidin musiman terbukti menjadi penyebab utama munculnya penyakit flu musiman. Biasanya pada musim dimana pajanan matahari terbilang minim, seperti musim dingin. Adapun kadar normal dan indikator status vitamin D seseorang dapat terlihat sesuai tabel 1 berikut. (Sumber: Mangin et al., 2014) et al, 2016).

#### **F. VITAMIN D RECEPTOR (VDR)**

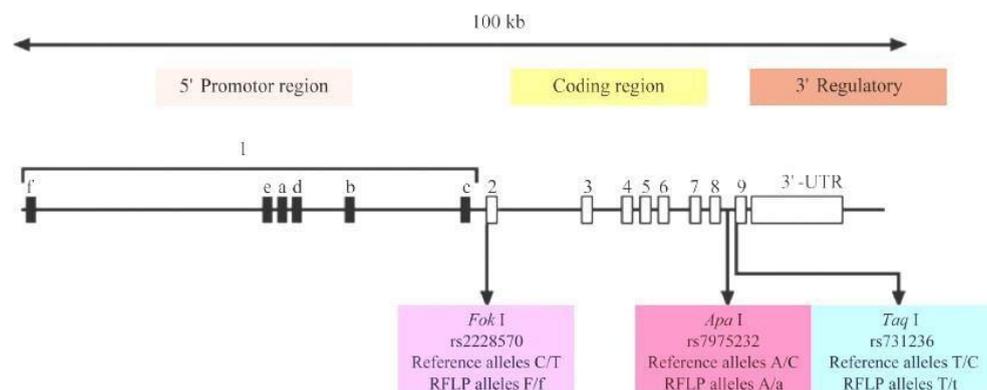
Vitamin D memiliki afinitas antiproliferatif dan antineoplastik, termasuk apoptosis, inhibisi proliferasi siklus sel, induksi

diferensiasi, inhibisi invasi dan mortalitas serta reduksi angiogenesis. Aktivitas ini menggunakan jalur genomik dan non genomik dan dimediasi oleh reseptor vitamin D (VDR). Reseptor vitamin D diekspresikan dalam jumlah yang besar pada jaringan tumor dan sel yang terinfeksi. Penelitian terbaru menunjukkan VDR dan enzim yang terlibat pada metabolisme vitamin D memiliki kerusakan pada jalur signaling VDR. Ekspresi VDR oleh sel imun menunjukkan bahwa vitamin D mempengaruhi fungsi sistem imun. Lebih dari jaringan tubuh yang berbeda seperti otak, hati dan pankreas, limfatik, kulit, gonad dan prostat terdiri dari sel termasuk limfosit T dan B yang mengekspresikan VDR. Reseptor vitamin D berikatan dengan 1,25-hydroxy vitamin D, bentuk aktif vitamin D dan memediasi aktivitas biologisnya. Vitamin D memiliki pengaruh yang kuat pada sistem imun host dengan modulasi sistem imun innate dan adaptif serta regulasi kaskade inflamasi (Silvana, 2010).

Gen *Vitamin D Receptor (VDR)* dipetakan ke wilayah kromosom manusia 12q13-14 (gambar 5) dan panjangnya sekitar 100 kb, terdiri dari 5' wilayah promotor, 14 ekson (*protein-coding* ekson 2- 9 dan ekson yang tidak diterjemahkan 1a-1f) sebagaimana yang ditunjukkan pada gambar 6 (Sato *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2015).



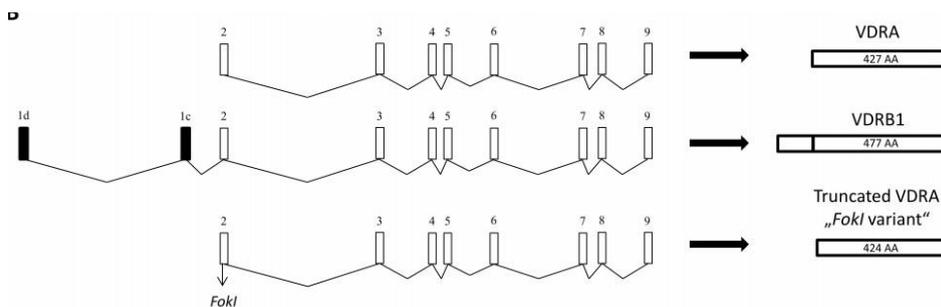
**Gambar 9 Lokasi Gen VDR pada kromosom 12 pada lengan panjang (q) kromosom 12 di posisi 13.11**



**Gambar 10 Struktur ekson-intron dari gen VDR dan posisi polimorfisme FokI, TaqI dan ApaI. VDR terletak pada kromosom 12 dan berisi sembilan ekson: nomor 1, yang ditunjuk a-f dan ditandai dengan bilah hitam, berisi enam subunit yang tidak diterjemahkan di wilayah**

Gen yang terdiri dari 14 ekson ini dapat dibagi menjadi dua wilayah utama. Ekson pertama terletak di wilayah promotor dan memiliki enam varian (a - f) penting untuk penyambungan alternatif *VDR*. Ekson 2 - 9 hadir di wilayah pengkodean (*coding region*) yang umum untuk semua 14 transkrip yang diketahui (Zenata and Vrzal,2017). Sampai saat ini, hanya tiga isoform (dua dibuat dengan splicing alternatif, satu oleh polimorfisme dalam kodon inisiasi translasi) dari *VDR* ditemukan dalam sel manusia atau *cell line* (Gambar 7). Bentuk yang paling banyak muncul adalah *VDRA* yang terdiri dari 427 asam amino (48 kDa). Isoform kedua, disebut *VDRB1*,

memanjang pada domain N-terminal sekitar 50 asam amino (477 asam amino; 54 kDa) dengan situs awal (ATG) di ekson 1d (berbeda dengan VDRA memiliki situs awal di ekson 2) dan ditemukan di ginjal manusia, garis sel epitel usus dan ginjal (Crofts *et al.*, 1998; Sunn *et al.*, 2001). Perpanjangan ini memungkinkan reaksi yang berbeda terhadap ligan (kalsitriol atau asam litokolat) di berbagai jenis jaringan, menunjukkan bahwa aktivasi VDRA dan VDRB1 adalah spesifik ligan dan jaringan (Esteban *et al.*, 2005). Konstruksi ekspresi VDRB1 spesifik-Isoform menghasilkan transaktivasi bergantung ligan yang lebih rendah daripada VDRA (Sunn *et al.*, 2001). Bentuk isoform ketiga karena polimorfisme *FokI* dari *VDR FokI* (didefinisikan oleh enzim restriksi) terdapat pada kodon inisiasi translasi dan menghasilkan pembentukan VDR yang lebih pendek (424 asam amino) yang memiliki aktivitas transkripsi lebih tinggi daripada VDR panjang komplit (427 asam amino) (Jurutka *et al.*, 2000).



**Gambar 11** Gambar skematik komposisi protein VDR

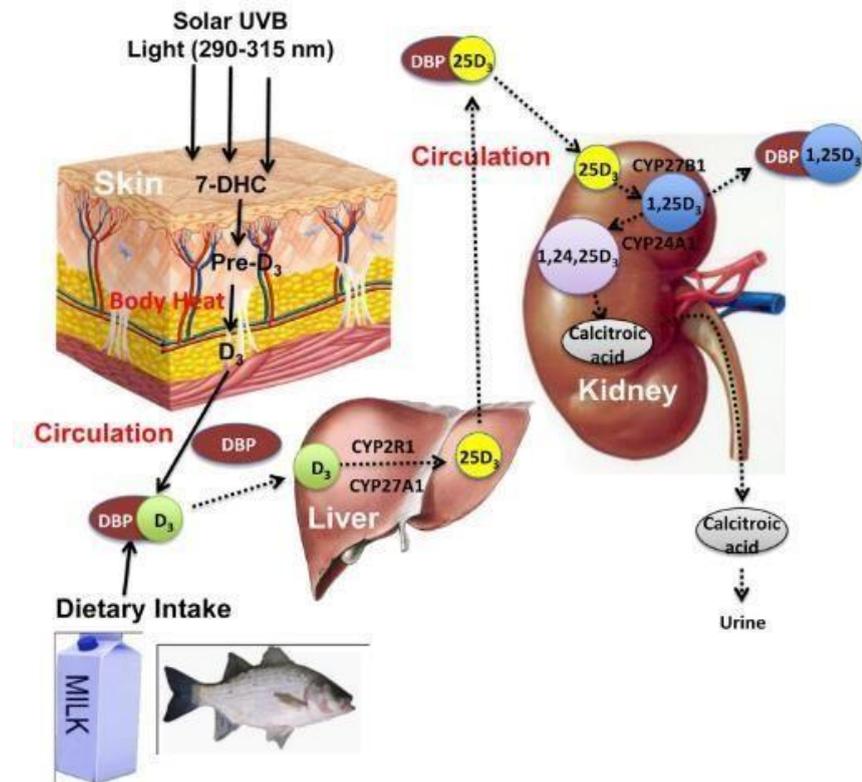
**Varian paling umum disebut VDRA, yang terdiri atas 427 asam amino (AA). Varian VDRB1 memanjang pada domain N-terminal oleh dua ekson (1d dan 1c) dan memiliki 477 AA. VDRA yang pendek (*Truncated VDRA*) disebabkan karena polimorfisme *FokI*, yang**

**terdapat pada kodon inisiasi, dan memiliki 424 AA (Zenata and Vrzal, 2017)**

Gen *VDR* menyediakan instruksi untuk membuat protein yang disebut reseptor vitamin D (*VDR*), yang memungkinkan tubuh merespons vitamin D. *VDR* adalah penentu mutlak aktivitas biologis 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>), bentuk aktif dari vitamin D (Pike and Meyer, 2012). Vitamin ini dapat diperoleh dari makanan dalam makanan atau dibuat dalam tubuh dengan bantuan paparan sinar matahari. Vitamin D terlibat dalam menjaga keseimbangan beberapa mineral dalam tubuh, termasuk kalsium dan fosfat, yang penting untuk pembentukan tulang dan gigi yang normal. Salah satu peran utama vitamin D adalah mengontrol penyerapan kalsium dan fosfat dari usus ke dalam aliran darah. Vitamin D juga terlibat dalam beberapa proses yang tidak terkait dengan pembentukan tulang dan gigi (Genetics Home Reference, 2019b).

Vitamin D, baik yang diproduksi secara endogen (vitamin D<sub>3</sub>) atau dari makanan (vitamin D<sub>2</sub> atau vitamin D<sub>3</sub>), harus diaktifkan untuk menghasilkan efeknya (Jones, 2013). Saat memasuki sirkulasi, Vitamin D dibawa ke hepar, di mana ia mengalami hidroksilasi pertama menjadi 25-hydroxyvitamin D (25 (OH) D), yang merupakan bentuk utama vitamin D dalam sirkulasi. Dari hepar, 25 (OH) D melalui sirkulasi masuk ke ginjal, di mana ia mengalami hidroksilasi selanjutnya menjadi 1 $\alpha$ , 25- dihydroxyvitamin D (1 $\alpha$ , 25 (OH) 2D), yang merupakan bentuk aktif (gambar 8). Setelah menjalani hidroksilasi kedua, vitamin D

dapat mengatur transkripsi gen di seluruh tubuh (Adams and Hewison, 2012; Chen *et al.*, 2013; Jones, 2013).



**Gambar 12 Gambar skematik komposisi protein VDR**

Manusia menerima sebagian besar kebutuhan vitamin D dari paparan kulit mereka terhadap sinar matahari, sementara sebagian kecil dapat diperoleh dari sumber makanan, seperti susu dan ikan berminyak. Setelah terpapar dengan ultraviolet B yang memiliki panjang gelombang antara 290 dan 315 nm, 7- dehydrocholecalciferol (7-DHC) di kulit difotolisis untuk membentuk 9,10-seco-sterol pre-vitamin D<sub>3</sub> (Pre-D<sub>3</sub>) yang mengalami isomerisasi (bergantung panas) untuk membentuk vitamin D<sub>3</sub> (D<sub>3</sub>). D<sub>3</sub> yang diproduksi secara khusus

ditranslokasi oleh protein protein pengikat vitamin D (VDBP) ke sirkulasi dan kemudian ke hati untuk hidroksilasi pada karbon-25 untuk membentuk 25- hydroxyvitamin D<sub>3</sub> (25 (OH) D) terutama oleh dua enzim sitokrom P-450, CYP2R1 dan CYP27A1. 25 (OH) D yang telah disintesis kemudian diangkut ke ginjal setelah terikat VDBP dalam aliran darah. Dalam ginjal, 25 (OH) D dihidroksilasi dengan adanya CYP27B1 hingga membentuk 1 $\alpha$ , 25- dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> (1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D), bentuk aktif vitamin D, yang berfungsi sebagai hormon untuk mengatur berbagai fungsi seluler di organ lain, atau bertindak di dalam ginjal dengan cara otokrin dan / atau parakrin. 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D dihidroksilasi lebih lanjut oleh CYP24A1 pada karbon-24 untuk membentuk 1 $\alpha$ , 24,25-trihydroxyvitamin D<sub>3</sub> (1 $\alpha$ ,24,25(OH)<sub>3</sub>D). Hidroksilasi pada karbon-24 oleh CYP24A1 adalah langkah pertama katabolisme 1,25D<sub>3</sub> untuk menghentikan aksinya, yang mengarah pada pembentukan asam sitroat, metabolit yang larut dalam air, dan diekskresikan ke dalam urin (Sutaria, Liu and Chen, 2014).

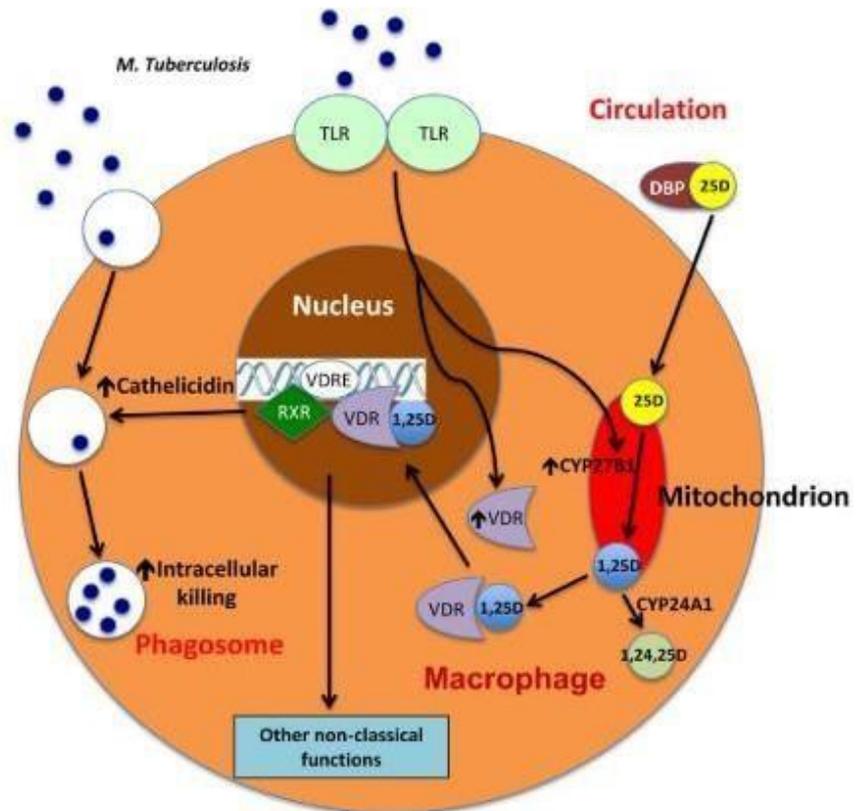
### **G. Hubungan VDR dengan Tuberkulosis**

Peran vitamin D terhadap immunitas *host* melawan infeksi TB telah lama diketahui. Ikatan metabolit aktif vitamin D (kalsitriol) dengan reseptor vitamin D (VDR) pada sel imun memodulasi aktivitas makrofag terhadap infeksi *mycobacterium* (Chocano- Bedoya and Ronnenberg, 2009). Untuk itu, rendahnya level calcitriol dan/atau abnormalitas reseptor vitamin D dapat mengganggu fungsi makrofag, sehingga

meningkatkan kerentanan terhadap tuberkulosis (Nnoaham and Clarke, 2008). Studi telah membuktikan bahwa kekurangan vitamin D (serum 25 (OH) D (kadar <20 ng / mL atau <50 nmol / L) dan insufisiensi serum 25 (OH) D (kadar <30 ng / mL atau <75 nmol / L) dikaitkan dengan risiko TB aktif yang lebih tinggi (Holick, 2011; Sato *et al.*, 2012). Namun, beberapa laporan tidak menemukan perbedaan yang signifikan dalam kadar vitamin D pada individu TB dan non-TB (Koo *et al.*, 2012; Sarin *et al.*, 2016; Yuvaraj *et al.*, 2016; Ashenafi *et al.*, 2018). Selain itu, meskipun ada banyak bukti bahwa vitamin D mungkin berperan dalam kerentanan *host* terhadap tuberkulosis (TB), *randomized controlled trials* belum menemukan efek yang signifikan dari pemberian vitamin D<sub>3</sub> dengan konversi dahak pada pasien TB (Tukvadze *et al.*, 2015; Ganmaa *et al.*, 2017; Bekele *et al.*, 2018), atau mengurangi risiko infeksi TB (Ganmaa *et al.*, 2020). Intervensi vitamin D<sub>3</sub> tampaknya dimodifikasi oleh varian genetik di *VDR* (Ganmaa *et al.*, 2017). Akibatnya, efek vitamin D mungkin tergantung pada genotipe dan aktivitas *VDR* (Sutaria, Liu and Chen, 2014).

Vitamin D harus berikatan dengan VDR sebagai reseptor untuk dapat aktif bekerja di sel target (Gao *et al.*, 2010). Setelah mengikat ke 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D, bentuk aktif vitamin D, atau analognya, kompleks VDR bergerak ke dalam nukleus tempat ia mengatur ekspresi gen. Di antara efeknya termasuk peningkatan sintesis komponen sistem kekebalan tubuh bawaan, seperti katelisin, yang memainkan peran

penting terhadap infeksi mikobakteri, serta molekul antibakteri, antimikobakteri, dan antivirus lainnya (Gambar 9). Autofagi, pencernaan makromolekul intraseluler dan inklusi, adalah fungsi seluler penting lainnya yang dirangsang oleh *VDR* teraktivasi. Fungsi ini sangat penting dimana ia terlibat dalam pembersihan patogen intraseluler, seperti mikobakteria, serta sel-sel neoplastik. *VDR* teraktivasi juga berperan dalam mengatur sistem imun adaptif dengan menghambat proliferasi limfosit dan mengurangi produksi sitokin proinflamasi untuk mencegah respon berlebihan. Terdapat beberapa studi polimorfisme gen *VDR*, dengan beberapa polimorfisme memediasi efek hilir yang lebih kuat daripada yang lain. Akibatnya, efek vitamin D tergantung pada genotipe *VDR* ini (Adams and Hewison, 2008; Sutaria, Liu and Chen, 2014).



**Gambar 13 Aktivasi sistem imun bawaan yang dimediasi vitamin D**

Sistem imun bawaan menyediakan lini pertahanan pertama melawan infeksi patogen. Setelah deteksi patogen, seperti *Mycobacterium tuberculosis*, toll-like receptor (TLR) pada membran makrofag diaktifkan untuk menginduksi regulasi transkripsional dari reseptor vitamin D (VDR) dan meningkatkan ekspresi CYP27B1, yang mengarah pada peningkatan sintesis 1,25D dan VDR, dua komponen penting yang bertanggung jawab untuk regulasi berbagai gen yang bergantung pada VDR termasuk pengaturan regulasi ekspresi katelisin. Penggabungan katelisin ke dalam fagosom yang mengandung *M. tuberculosis* yang telah diinternalisasi memungkinkan peptida berfungsi sebagai agen antimikroba untuk membunuh patogen yang menyerang (Sutaria, Liu and Chen,2014).

## H. HUBUNGAN INFEKSI TBC DENGAN VITAMIN D

Jumlah penderita defisiensi vitamin D didapatkan semakin meningkat, bahkan dapat mencapai 75% kasus pada penderita dengan positif TBC. Faktor risiko defisiensi vitamin D pada penderita TBC dapat merupakan faktor klasik (bawaan) serta faktor terkait TBC yang meliputi aktivasi imun dan efek samping obat anti retroviral. Dalam suatu studi, Mansueto menunjukkan prevalensi defisiensi vitamin D bervariasi antara 70 – 80 % pada pasien terinfeksi TBC. Didapatkan berbagai jenis penyebab adanya defisiensi vitamin D pada pasien yang menderita TBC. Faktor risiko defisiensi vitamin D pada infeksi TBC meliputi faktor risiko spesifik terkait TBC dan faktor risiko tidak terkait TBC. Faktor risiko tidak terkait TBC untuk defisiensi vitamin D antara lain jenis kelamin (wanita memiliki risiko lebih besar), usia lanjut, paparan sinar matahari yang terbatas, pigmentasi kulit, etnis kulit gelap, intake vitamin D rendah, penyakit gangguan absorpsi gastrointestinal, penyakit hati dan ginjal, indeks massa tubuh yang tinggi, DM dan konsumsi alkohol. Faktor risiko terkait TBC juga dapat menyebabkan defisiensi vitamin D. Faktor risiko tersebut antara lain inflamasi kronik (peningkatan TNF- $\alpha$ ), peningkatan turnover limfosit T, serta efek obat anti retroviral tertentu (protease inhibitor dan efavirenz). Mekanisme yang dianggap berperan adalah adanya hiperaktivitas imunologis dan overproduksi TNF- $\alpha$  yang menyebabkan gangguan 1 $\alpha$ -hidroksilase ginjal, sehingga menurunkan kadar 1,25(OH)<sub>2</sub>D.

Infeksi TBC dapat menyebabkan inflamasi kronik dan aktivasi imun. Pada pasien-pasien dengan defisiensi vitamin D ditemukan peningkatan kadar IL-6 dan TNF $\alpha$  serta peningkatan fenotip monosit. Adanya proses inflamasi kronis dapat menyebabkan aktivitas 1 $\alpha$ -hydroxylase di ginjal terganggu, sehingga menyebabkan pengurangan produksi 1,25(OH) $_2$ D dengan cara memblok konversi dari 25(OH)D menjadi 1,25(OH) $_2$ D yang distimulasi PTH. Faktor lain seperti komorbiditas, komplikasi infeksi dan hospitalisasi pada pasien terinfeksi TBC dapat menyebabkan berkurangnya paparan sinar matahari, malnutrisi dan berkurangnya intake makanan oral yang mengandung vitamin D tinggi.

#### **I. PERAN VITAMIN D PADA SISTEM IMUN INFEKSI TBC**

Vitamin D adalah immunomodulator yang poten dalam proses respon imun tubuh. Vitamin D berperan sebagai kofaktor untuk induksi aktivitas antimicrobial. Menurut Mangin et al. (2014), kadar vitamin D yang rendah merupakan akibat dari infeksi bakteri, bukan sebaliknya. Bakteri intraselular atau cell wall deficient bacteria, contohnya, akan menginvasi makrofag. Selanjutnya invasi makrofag tersebut akan mengakibatkan aktifnya cell-mediated immune response. Respon imun tersebut akan merangsang terbentuknya sitokin. Dalam makrofag dan monosit, aktivasi sitokin dapat menghambat ekspresi gen VDR. Terhambatnya VDR mengakibatkan meningkatnya kadar 1,25(OH) $_2$ D karena aktivitas pengikatannya dengan reseptor vitamin D (VDR) berkurang. Hal tersebut juga memicu peningkatan

metabolisme 25(OH)D sehingga kadar vitamin D serum pun berkurang. Peningkatan metabolisme tersebut terjadi karena tubuh mendeteksi kurangnya pengikatan bentuk aktif vitamin D dengan reseptor sehingga tubuh meningkatkan pengaktifan 25(OH)D menjadi 1,25(OH)D secara berlebihan. Kadar vitamin D <20 ng/mL dapat menghambat macrophage-initiated immune response terhadap infeksi. Seluruh proses tersebut akhirnya mengakibatkan penurunan daya tahan tubuh dan mengakibatkan infeksi yang persisten oleh bakteri. (CDC, 2010)

Peranan vitamin D dapat terjadi melalui aktivasi Cathelicidin, sebuah peptide antimikrobal yang ditemukan di lisosom makrofag dan granula sekunder netrofil, serta dapat diproduksi oleh sel epitelial. Bentuk aktif vitamin D dapat meningkatkan ekspresi gen untuk produksi AMP Cathelicidin, suatu protein yang bersifat mikrobisidal melawan bakteri, jamur dan virus. Pada manusia hanya satu jenis Cathelicidin yang teridentifikasi. Kadar 1,25(OH)D yang adekuat untuk produksi Cathelicidin adalah 30ng/ml. Sebelum kadar tersebut tercapai, zat-zat inflamatorik dikeluarkan secara kontinyu sehingga saat kadar tersebut tercapai, sudah terjadi akumulasi zat-zat inflamatorik yang bersifat litik yang juga dapat mengakibatkan kerusakan pada sel normal. Hal ini terjadi terutama pada infeksi yang bersifat kronis. Gejala klinis baru akan muncul beberapa minggu hingga bulan setelah terjadi infeksi, dan bahkan dapat terjadi fase dorman dimana bakteri "tertidur" di dalam tubuh kita dalam waktu yang lama

dan akan “terbangun” sewaktu-waktu jika imun kita mulai melemah lagi. Peningkatan 1,25(OH)D terbukti memacu autofagi dalam makrofag manusia, sehingga menyebabkan penghambatan pada replikasi virus HIV (Mangin et al, 2014). Efek vitamin D pada progresifitas TBC dapat dijelaskan melalui perannya pada imunitas innate dan adaptif. Sistem imun innate adalah lini pertama pertahanan tubuh melawan infeksi dan meliputi sel imunitas innate seperti sel NK yang memiliki kemampuan untuk menghancurkan sel yang terinfeksi virus. Sistem imun innate juga merekrut sel imun ke lokasi infeksi lewat produksi sitokin oleh sel dendritik. Beberapa studi sebelumnya telah menghubungkan antara kadar vitamin D yang rendah dengan peningkatan resiko infeksi. Sebuah studi potong lintang yang melibatkan 19.000 subyek menunjukkan bahwa individu dengan kadar vitamin D rendah (< 30 ng/dl) lebih sering menderita ISPA daripada mereka dengan kadar vitamin D yang cukup. Metabolit hidroksilasi vitamin D3 dapat menyebabkan hambatan pertumbuhan Mycobacterium tuberculosis pada sel monosit manusia sehat. Hal ini dapat menjelaskan mengapa vitamin D dapat digunakan untuk mencegah progresifitas HIV menuju AIDS karena Mycobacterium tuberculosis merupakan salah satu penyebab progresifitas penyakit dan mortalitas pada pasien yang terinfeksi HIV. Selain itu, terdapat efek vitamin D yang meningkatkan resistensi terhadap tuberculosis sehingga memperpanjang survival pada penderita HIV tersebut.

## J. Vitamin D, Imunitas Innate, dan Infeksi TBC

Vitamin D terlibat dalam pertahanan host melalui jalur autokrin pada monosit manusia dan stimulasi berkelanjutan makrofag terhadap toll like-receptor (TLRs)<sup>2</sup>, TLR4, reseptor interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) atau CD40. Reseptor ini memulai sinyal kaskade yang menginduksi regulasi dari VDR dan CYP27B1, menyebabkan konversi 25(OH)D menjadi 1,25(OH)<sub>2</sub>D. Ikatan 1,25(OH)<sub>2</sub>D terhadap VDR menyebabkan ekspresi gen multitarget yang memodulasi fungsi monosit/makrofag selama infeksi. Pada tahap selanjutnya vitamin D mencegah respon inflamasi berlebihan terhadap penyakit infeksi dengan menghambat maturasi sel dendritik. Sel dendritik juga mengekspresikan VDR, begitu pula CYP27A1 dan CYP27B1, dengan demikian menggeneralisasi secara lokal bioaktif 1,25(OH)<sub>2</sub>D. Monosit manusia dari sel dendritik mengkonversi 25(OH)D menjadi 1,25(OH)<sub>2</sub>D lebih sedikit dari makrofag. Hal ini disebabkan sel dendritik mengekspresikan sebagian besar transkrip CYP27B1 yang terpotong, menyebabkan defisiensi aktivasi vitamin D. (Kundu et al, 2014) Kadar tinggi vitamin D dan reseptornya dapat dihubungkan dengan resistensi alami infeksi TBC 1. Hal ini dapat menjadi dasar regulasi anti inflamasi IL-10 dan induksi defesin anti TBC-1 di mukosa terhadap individu seronegatif yang terekspos TBC-1. Sebagai tambahan, ekspresi VDR secara positif berhubungan dengan ekspresi beberapa molekul anti TBC (seperti elafin, TRIM5, cathelicidin microbial peptide/CAMP, HAD-4, dan RNase7). Proses inflamasi

pada perjalanan klinis penyakit dapat mengurangi kadar 25(OH)D, dimana akan menjelaskan rendahnya kadar vitamin D dalam skala besar penyakit pada populasi umum dan pasien terinfeksi TBC. Vitamin D membantu pengeluaran TNF yang dimediasi pada makrofag pasien terinfeksi TBC melalui peningkatan jalur sinyal TLR. (Anandaiah, 2013). Sebagai tambahan, tingginya kadar vitamin D dihubungkan dengan proteksi melawan terjadinya sindrom inflamasi rekonstruksi imun (IRIS) dan penurunan insidensi TB paru dan mortalitas di antara pasien yang terinfeksi TBC. (Dimitrov et al, 2016).

#### **K. Vitamin D, Imunitas Adaptif, dan Infeksi TBC**

Vitamin D dapat secara tidak langsung mempengaruhi respon sel T melalui modulasi fenotip DC dan kapasitas stimulasinya terhadap sel T. Sel T naïve ataupun memori, mengekspresikan VDR pada kadar yang rendah, memicu vitamin D beraksi secara langsung pada sel T ini. Aktivasi sel T meningkatkan ekspresi VDR dan CYP27B1 yang memungkinkan 25(OH)D diubah menjadi 1,25(OH)2D untuk memodulasi fungsi efektor vitamin D. Vitamin D menekan profil Th1, Th17, Th2 terhadap produksi sitokin sehingga merubah fenotip dan fungsi sel T. Efek vitamin D pada sel B diduga berupa modulasi sel Th. Sel B manusia juga mengekspresikan VDR dan CYP27B1 yang mengatur aktivasi, menyebabkan sel B dapat menerima rangsangan 1,25(OH)2D. Vitamin D menginduksi dan terlibat dalam diferensiasi sel plasma manusia. (Vanherwegen AS, 2016).

**Tabel 2. Tabel tinjauan pustaka VDR dan TB**

No.	Lokasi studi	Jumlah subjek	Metode		Hasil Penelitian	Referensi
1.	Anhui Chest Hospital, China	75 pasien TB dan 63 kontrol	qRT-PCR		Perubahan tingkat ekspresi VDR yang menunjukkan adanya keterlibatan dalam penyakit TB	(Li <i>et al</i> , 2020)
2.	Manipal, India	50 pasien TB Paru dan 50 kontrol	ELISA		Defisiensi vitamin D umum terjadi pada pasien TB Paru dibandingkan dengan orang sehat.	(Sari <i>et al</i> , 2022)
3.	Medan, Indonesia	30 pasien TB	CLIA		Tidak ada hubungan bermakna secara statistic antara kadar vitamin D serum manusia, Riwayat penggunaan kortikosteroid dan Riwayat diabetes.	(Harahap, 2022)
4.	China	70 pasien TB dan 210 kontrol	ECLIA		Serum Vitamin D yang tinggi mungkin merupakan factor risiko independent untuk TB pada populasi China Han	(Li Cai <i>et al</i> , 2022)
5.	Kharian, Pakistan	105 pasien TB dan 255 kontrol	CLIA		Pasien dengan TB secara signifikan kekurangan vitamin D dibandingkan dengan orang	(Iftikhar <i>et al</i> , 2013)

					normal	
6.	Dhaka, Bangladesh	30 pasien dengan TB Paru dan 30 kontrol	CLIA		Kekurangan vitamin D ditemukan baik pada pasien tuberkulosis paru maupun kontrol yang sehat tetapi secara signifikan rendah pada pasien tuberkulosis dan suplemen diperlukan untuk mereka.	Sah et al, 2021
7.	Gurawa	24 pasien TB dan 24 kontrol	CLIA		Pasien dengan TB mengalami kekurangan vitamin D dibandingkan dengan orang normal	(Dhania, 2019)
8.	Sudan	101 pasien TB Paru dan 100 kontrol	ELISA		Tingkat vitamin D yang rendah secara signifikan terkait dengan tuberkulosis paru. Karakteristik sosio-demografis pasien, riwayat penyakit, dan temuan laboratorium sangat membantu dalam prediksi defisiensi Vit D dan tingkat keparahan tuberkulosis paru.	(Elsafi et al, 2020)

9.	India	180 pasien TB dan 90 kontrol	CLIA		Tidak ada hubungan antara kadar serum CAMP dan kadar serum vitamin D atau infeksi TB	(Belur <i>et al</i> , 2022)
10.	Malang	20 pasien TB dengan pengobatan suportif vitamin D dan 21 pasien TB tanpa pengobatan suportif	ELISA		Pengobatan suportif vitamin D yang menyertai pengobatan Oral Anti Tuberculosis (OAT) standar dapat mempercepat kesembuhan penderita tuberkulosis dengan parameter konversi sputum dan gambaran radiologis, tetapi tidak dapat mempercepat penurunan kadar TNF- $\alpha$ dalam serum.	(Siswanto <i>et al</i> , 2009)

**Tabel 3. Tabel Meta Analisis VDR dan TB**

No.	Jumlah studi dalam meta-analisis	Hasil meta-analisis	Keterbatasan/rekomendasi	Referensi
1.	42 studi (370 artikel yang berpotensi relevan)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Varian VDR yang diselidiki dianalisis secara intensif dengan potensi hubungannya dengan TB</li> <li>• Mekanisme patogenik TB sangat kompleks, oleh karena itu tidak mungkin satu varian genetic dapat berkontribusi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Penelitian di masa depan masih perlu mengeksplorasi mekanisme molekuler.</li> <li>• Melakukan penelitian lebih lanjut untuk melakukan analisis haplotype dan mengekspolaris potensi interaksi gen-gen</li> </ul>	(Xu, Xun and Shen, Minghao., 2019)

		secara signifikan terhadap perkembangannya.		
2.	26 studi (13 case-control dan 13 cross-sectional)	Odds ratio (OR) kekurangan vitamin D pada pasien TB dengan control sehat adalah 3,23 dengan interval kepercayaan (CI) (1,91-5,45)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Penelitian yang termasuk memiliki heterogenitas yang tinggi dan juga tidak mengklarifikasi hubungan kausal antara tingkat vitamin D yang rendah dan infeksi tuberkulosis.</li> <li>• Diperlukan studi yang lebih prospektif untuk membandingkan kelompok yang kekurangan vitamin D dan populasi yang sehat serta perkembangan infeksi tuberkulosis pada kelompok tersebut untuk menentukan penyebabnya.</li> </ul>	(Kafle et al, 2021)
3.	38 studi	Kadar vitamin D pada pasien TB lebih sedikit dan defisiensi vitamin D memiliki risiko lebih tinggi terkena TB	Melakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan apakah suplemen vitamin D bermanfaat untuk pencegahan dan pengobatan TB.	(Huang et al, 2014)
4.	5 studi	Suplementasi vitamin D tidak memiliki efek menguntungkan dalam pengobatan anti-TB, tetapi mempercepat waktu konversi kultur sputum pada pasien dengan genotype tt dari polimorfisme TaqI VDR dan meningkatkan tingkat konversi kultur sputum TB MDR.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Keterbatasan data dan beragamnya kualitas metodologi uji coba yang dapat menimbulkan hasil palsu, bukti harus dilihat dengan hati-hati.</li> <li>• Diperlukan randomized controlled trials (RCTs) berkualitas untuk menyelidiki suplementasi vitamin D pada pasien TB dengan polimorfisme gen VDR dan TB MDR.</li> </ul>	(Zhang et al, 2019)
5.	7 studi	Ada hubungan antara kadar serum	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diperlukan studi prospektif untuk</li> </ul>	(Nnoaham, Kelechi E and

		vitamin D yang rendah dengan tuberculosis	menetapkan secara tegas arah hubungan antara vitamin D dan tuberculosis serta diperlukan evaluasi suplementasi vitamin D pada pasien tuberculosis.	Clarke, Aileen., 2007)
6	11 studi dengan 22.265 pasien Covid-19	Data menunjukkan bahwa suplementasi vitamin D dikaitkan dengan penurunan tingkat masuk unit perawatan intensif (OR 0,27; 95% CI: 0,09-0,76, p = 0,010, I2 = 70%, pemodelan efek-acak); pengurangan kebutuhan akan ventilasi mekanis (OR 0,34; 95% CI: 0,16-0,72, p = 0,005, I2 = 61%, pemodelan efek acak) dan pengurangan angka kematian akibat Covid-19 (OR 0,37; 95% CI: 0,21-0,66, p <0,001, I2 = 50%, pemodelan efek-acak).	Heterogenitas signifikan diidentifikasi pada sebagian besar hasil kepentingan yang termasuk dalam penelitian ini. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan dosis vitamin D yang diberikan dan obat yang diberikan bersama dengan vitamin D sebagai pengobatan Covid-19. Yang penting, kami telah melakukan upaya yang ketat untuk memastikan bahwa hanya studi yang masuk akal yang dimasukkan, dan beberapa studi pra-cetak dimasukkan untuk meminimalkan risiko bias publikasi.	1.
7	8 studi	Hasil identifikasi studi kasus-kontrol dan dua studi kohort yang telah mengevaluasi hubungan antara suplemen vitamin D dan risiko kanker payudara. OR dan RR yang dikumpulkan masing-masing adalah 0,78 (95% CI: 0,63-0,98) dan 1,06(95% IC: 0,90-1,25)	dalam studi diet atau suplemen vitamin D dan risiko kanker payudara Disesuaikan oleh usia,BMI,faktor reproduksi (usia menopause,usia menarche,paritas, dll).	2.
8	19 studi	Hasilnya menunjukkan bahwa Vit D meningkatkan kadar 25(OH)D3 lebih signifikan daripada kelompok kontrol (ng/mL, deviasi	pada pasien dengan IBD setelah pengobatan vitamin D dan plasebo. P<.00001 dan I2= 93% menunjukkan heterogenitas yang sangat diperlukan.	3.

		<p>rata-rata tertimbang [WMD]=7.85, 95% CI (5.52, 10.18), <math>P &lt; .000001</math>), dan dibandingkan dengan dosis yang lebih rendah, terdapat perbedaan yang signifikan dalam peningkatan kadar 25(OH)D3 (WMD=11.19, 95% CI [4.73, 17.65], <math>P = .0007</math>) pada pengobatan VitD dosis tinggi sementara tidak ada perbedaan yang signifikan pada efek samping. peristiwa antara 2 kelompok (WMD= 1.56, 95% CI [0.74, 3.29], <math>P = .24</math>).</p>		
9	4 studi	<p>Intervensi jangka pendek dengan vitamin D dikaitkan dengan perbaikan fungsi endotel, yang diukur dengan FMD. Ini menunjukkan efek positif vitamin D pada penyakit pembuluh darah pada CKD.</p>	<p>Keterbatasan dari penelitian ini adalah sejumlah kecil studi yang dilakukan, dan durasi intervensi yang singkat.</p>	<p>(Kristina Lundwall.,2018)</p>
10	8 studi	<p>Hasil menunjukkan bahwa suplementasi vitamin D kemungkinan memiliki efek pencegahan primer pada risiko kejadian serta efek menguntungkan pada pengobatan anti-tuberkulosis.</p>	<p>Heterogenitas statistiknya tidak diamati pada proporsi apusan sputum dan konversi kultur</p>	<p>(Xia Wu et al.,2018)</p>

## L. VIRGIN COCONUT OIL (VCO)

VCO atau kelapa murni adalah minyak kepala yang dibuat dari bahan baku kelapa segar atau santan, diambil minyaknya, diproses

dengan pemanasan terkendali atau pemanasan sama sekali dan tanpa bahan kimia. VCO memiliki kandungan fatty acid, asam laurat dan monolaurin yang berpotensi sebagai anti oksidan dan anti bakteri yang dapat membasmi berbagai jenis pathogen mulai dari virus, bakteri dan jamur. Komponen kimia asam lemak yang terkandung dalam VCO adalah asam lemak jenuh rantai sedang dan pendek yang mudah dicerna dan diserap oleh tubuh. Adapun asam lemak jenuhnya adalah asam laurat (41-52%), asam lemak miristat (13-19%), asam lemak palmitat (7,5-10,5%), asam lemak kaprilat (5-10 %), asam lemak stearat (1-3%). Virgin coconut oil (VCO) dapat membantu terapi pada pasien tb paru. Penelitian Kasman menunjukkan bahwa terapi oat dengan VCO dapat meningkatkan konversi sputum bta dan status gizi di BBKPM Kota Makassar (Kasman, 2013). Begitu pula pada penelitian Arifin M dkk menunjukkan bahwa VCO dan albumin pada penderita TB dengan gizi kurang yang memperoleh DOTS memperlihatkan konversi BTA yang lebih cepat, peningkatan status gizi dan lesi paru yang lebih baik dibandingkan kontrol (Arifin MZ dkk, 2014).

Virgin coconut oil (VCO) atau yang disebut juga dengan minyak kelapa saat ini sangat banyak digemari dan dipromosikan sebagai minyak sehat yang kaya akan manfaat. Beberapa manfaat yang dijumpai dari penggunaan coconut oil adalah sebagai penunjang dalam mengatasi berbagai masalah Kesehatan [1]. Minyak kelapa pada dasarnya adalah minyak nabati yang merupakan bahan pokok bagi industri makanan. Adapun sebutan lain dari minyak kelapa adalah minyak tropis

atau minyak laurat[2]. Namun demikian, terdapat perbedaan pada minyak kelapa yang digunakan untuk memasak (coconut cooking oil) dengan VCO. Perbedaannya terletak pada proses ekstraksi. RBD atau minyak kelapa biasa diekstraksi dengan bagian kulit kelapa yang sudah dikeringkan, digiling, dan kemudian dicampurkan dengan bahan kimia. Sedangkan VCO dihasilkan dari hasil santan kelapa murni segar yang kemudian mengalami proses fermentasi dengan menambahkan mikroba seperti *Lactobacillus fermentum* dan atau *Lactobacillus plantarum*, pemisahan santan dengan minyak (churning) dan kemudian diberikan enzim pemisah minyak dan air. VCO disebut virgin oil karena tidak ada proses pemanasan atau disebut juga dengan cold extraction[3]. Dari proses ini, RBD atau minyak biasa akan menimbulkan banyak asam lemak jenuh sedangkan pada VCO tidak terdapat endapan[4]. Selain itu, karena tanpa proses pemanasan, kandungan yang ada didalam VCO mampu mengurangi kadar kolesterol trigliserida, LDL, fosfolipid, VLDL dan meningkatkan HDL dalam serum darah dibandingkan dengan coconut oil. Selain itu VCO juga mengandung enzim antioksidan dan memiliki efek antitrombotik [5]. Berdasarkan literature lainnya, menunjukkan bahwa untuk mendapatkan efek antimikroba coconut, trigliserida terlebih dahulu dipecah menjadi monogliserida atau disebut juga asam lemak bebas. Namun asam lemak bebas yang dilepaskan lipase masih mengandung antimikroba yang lemah[6].

Beberapa komposisi dari VCO tersebut menimbulkan dampak positif VCO bagi kesehatan. Beberapa diantaranya adalah VCO dapat sebagai anti jamur, antibakteri, antioksidan, antivirus, mencegah penyakit kardiovaskuler, dan liver, meningkatkan sistem kekebalan tubuh, antidiabetik serta pengobatan syndrome metabolic[7]. Terkait dengan fungsinya sebagai antibakteri, dari beberapa hasil telusur ilmiah menunjukkan bahwa VCO dapat mengatasi penyakit TBC. TBC merupakan penyakit yang dikenal sebagai penyakit menular (airborne disease) yang mematikan dan seringkali tidak hanya menjadi beban masalah besar pada sektor kesehatan, ekonomi, dan sosial untuk negara-negara yang cenderung dengan lower dan middle income[8]. Laporan kasus dunia menunjukkan bahwa terdapat sekitar 10-20 juta kasus TB. 90 % kasus ditemukan pada orang dewasa dan 9% pada orang dengan HIV. Beban tertinggi penyakit TB di dunia ditempati oleh etiopia, dan peringkat 3 adalah afrika[9]. Rata-rata tingkat kejadian TB ada 164 diantara 100.000 penduduk. 23% diantaranya merupakan TB laten[10].

Coconut oil atau minyak kelapa yang merupakan bahan dasar dalam pengolahan makanan dan dietary fat yang paling penting dan utama. Dalam industry pengolahan makanan, keberadaan coconut oil sangat lah vital. Terdapat 2 jenis coconut oil yaitu: minyak kelapa RBD atau minyak kopra dan VCO[13]. RBD atau kopra merupakan minyak yang diperhalus atau dimurnikan dengan menggunakan berbagai senyawa kimia (refined) dan kemudian dijernihkan (bleaching), dan

terahir menghilangkan aroma tidak sedap yang muncul (deodorised) yang disebut juga dengan RBD Coconut oil[14]. Proses pembuatan RBD adalah dengan terlebih dahulu mengeringkan kelapa baik dengan menggunakan asap, matahari ataupun keduanya. kemudian setelah dibersihkan, kelapa parut kemudian ditekan guna mendapatkan minyak kelapa. Namun demikian, untuk mendapatkan minyak kelapa yang sehat, dalam proses ekstraksi tetap harus dilakukan 3 proses tersebut seperti refined, bleaching, dan deodorised[15] sedangkan jenis yang lainnya adalah VCO, berbeda dengan RBD yang diekstraksi dengan dry process, VCO di ekstraksi dengan teknik basah, dengan kondisi suhu yang terkontrol dengan baik sehingga komponen baik dari coconut oil dapat dipertahankan lebih banyak. Komponen kecil yang dapat dipertahankan dengan menghindari radiasi UV, seperti vitamin A dan E, dan polifol.

### **1. Komposisi VCO**

Saat ini VCO sudah banyak dimanfaatkan sebagai suplemen makanan dan pelembab. Komposisi VCO lainnya adalah caprylic, caproic acid, capric acid, serta lauric acid [13]. Berdasarkan penelitian lainnya, menunjukkan bahwa sifat biologis VCO jauh lebih baik dari minyak kelapa. VCO mengandung asam lemak rantai yang memiliki 45-50% asam laurat yang merupakan agen anti mikroba dan antiinflamasi yang sangat kuat. Dengan dengan atau basah terintegrasi, struktur fisiko kimia menunjukkan kandungan asam

lemak bebas (FFA) berkisar 0,13%  $\pm$ 0,06%. Kandungan fenol berkisar antara 16,02  $\pm$  0,44 mg GAE dalam setiap 100 g VCO[16]

## 2. Ekstraksi VCO

VCO merupakan hasil ekstraksi kelapa yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Guna mendapatkan komposisi VCO terbaik, ada beberapa teknik ekstraksi yang digunakan, yaitu dengan teknik fresh-wet (fermentasi kemudian sentrifugasi) serta dengan teknik fresh dry (segar-kering). Dengan kedua teknik tersebut dapat mempertahankan komponen antioksidan dalam coconut oil seperti polifenol, tokotrienol, dan tokoferol [17].

VCO yang diekstraksi dengan teknik fermentasi menunjukkan adanya penambahan ragi pada sangat berpengaruh pada volume VCO yang dihasilkan. Baik kadar air, komposisi asam lemak bebas, ataupun viskositas. Adapun jenis ragi yang digunakan adalah *Saccharomyces cerevisiae* yang merupakan ragi roti, *Rhizopus* sp atau ragi tempe, serta yeast tape[18]. Sedangkan berdasarkan literatur yang lain menunjukkan bahwa ada 4 cara mendapatkan VCO yang berkualitas baik yaitu: melakukan sentrifugasi, pendinginan, direct micro expelling-oven dried yang tidak menggunakan suhu tinggi, serta direct micro expelling sun-ried[19]. Namun dari sumber lainnya, digambarkan bahwa sifat fisiko kimia asam lemak coconut oil dengan kualitas terbaik didapatkan dari metode pengolahan dengan cara sentrifugasi atau pemisahan padat-cair tersuspensi[20].

### 3. Manfaat VCO

Fresh VCO mengandung komposisi yang sangat bermanfaat dalam menurunkan tekanan darah, membantu menurunkan berat badan berlebih, serta biomarker dalam proses inflamasi. Namun sebaliknya, VCO yang sudah dipanaskan secara berulang, seperti minyak sawit justru dapat menjadi pencetus peningkatan tekanan darah. Oleh karena itu, VCO hendaknya dikonsumsi dalam keadaan fresh guna memperoleh manfaat sehatnya [17].

Selain itu dalam penelitian yang lain menunjukkan bahwa VCO yang diolah dengan system fresh wet memiliki peran yang bagus sebagai antioksidan endogen dan paraxonase 1, karena dapat mencegah proses oksidasi lipid dan protein[17]. Manfaat lainnya adalah VCO dapat menjadi hepatoprotektif dengan teknik kering ataupun fermentasi. Dari hasil percobaan menggunakan kerusakan hati akibat induksi paracetamol menunjukkan bahwa VCO secara signifikan dapat mengurangi kerusakan hati atau hepatoprotektif[22]. Selain itu, mengonsumsi VCO harian sebanyak 30 mL teruntuk orang sehat dewasa muda dapat meningkatkan kadar kolesterol lipoprotein densitas tinggi. Konsumsi VCO selama 8 minggu setiap hari tidak ditemukan masalah ataupun komplikasi[23]. Literature lain juga menunjukkan bahwa walaupun masih dalam kajian terbatas, penggunaan VCO juga terbukti dapat mengatasi kejadian dermatitis atopik, serta pencegahan karies gigi, ataupun kerusakan rambut karena paparan uv dan perawatan sehingga kehilangan banyak

protein[24]. Selain mengandung efek local, VCO yang merupakan diet yang kaya asam lemak tak jenuh dapat mengurangi kejadian cardiovascular disease (CVD), namun demikian beberapa uji masih terbatas pada uji coba pada hewan, sehingga dibutuhkan kajian selanjutnya pada manusia[25]. Dalam uji coba yang lain menunjukkan bahwa minyak kelapa mengandung konsentrasi yang lebih baik dari minyak kelapa sawit, minyak kelapa cenderung tidak mempengaruhi berat badan, persentasi lemak dalam tubuh, lingkaran pinggang dan taupun glukosa plasma. Namun demikian, Penggunaan minyak nabati (coconut oil) blum dapat dikatakan dapat mengurangi resiko PJK[26]

#### **4. Efek VCO pada penderita TB**

Selama ratusan tahun penyakit TB ini masih menjadi epidemi, dengan prevalensi kematian akibat TB 5000 orang/hari. MTB yang disebabkan oleh Mycobacterium tuberculosis merupakan penyakit yang parasite pada manusia dan mampu beradaptasi dengan baik. Bertahan hidup dengan menularkan antar sesama manusia. oleh karena itu diperlukan host yang dapat mempertahankan kekebalan sistemik sehingga penularan infeksi dapat dikendalikan[27]. Literatur lain menyebutkan bahwa, TB merupakan penyakit yang dapat menginduksi imunitas tubuh baik yang merupakan imunitas protektif ataupun merusak jaringan. TB Primer berperan dalam mediasi imunitas protective untuk menyebarkan infeksi. Berbeda dengan TB Primer, TB pasca primer berperan dalam membentuk kerusakan

jaringan yang berakibat pada pembentukan rongga. Kedua komponen tersebut sangat diperlukan untuk kelangsungan hidup bakteri mycobacterium tuberculosis atau MTB[28]. Proses MTB dalam melipatgandakan diri adalah dengan membuat makrofag yang diinfeksi MTB diasingkan kedalam jaringan yang hipoksia, dan kemudian melakukan diferensiasi yang berisikan lipid dengan kandungan triasilgliserol[29]. Literature lain menyebutkan bahwa, dalam proses replikasi MTB dilakukan dengan mengubah asam lemak menjadi asil-adenilat, sehingga inhibitor akan terganggu dengan adanya beraneka jalur[30]. Adapun struktur MTB yang sangat berperan dalam menentukan kelangsuhan hidup bakteri MTB yaitu membrane plasma, dinding sel, mikobakteri tao mikomembran dan kapsul[31].

Berdasarkan hasil penelitian, pemberian VCO dengan konsentrasi yang berbeda memiliki dampak dapat menurunkan jumlah koloni Mycobacterium tuberculosis. Pada pemberian VCO dengan jumlah konsentrasi berbeda, 1:10 dengan yang diberikan konsentrasi 1:10.000 mampu menurunkan koloni yang awalnya 46% berubah menjadi 100%. Hal ini dikarenakan preparat VCO yang berbeda memiliki komponen asam laurat yang berbeda[32]. Selain itu dampak pemberian VCO dikombinasikan dengan pemberian obat albumin lele berdampak pada tingkat kesembuhan dan memepersingkat lama pengobatan dikarenakan konversi pada sputum smear dan komposisi interferon gamma pada bulan ke-3[33].

Dampak positif dari penggunaan VCO dapat disebabkan karena kandungan rantai asam lemak jenuh atau gliserol monolaurat atau disebut juga monolaurin memiliki dampak kimia serta biologis atau memiliki antimikroba yang kuat dalam membunuh bakteri tuberculosis paru dengan cara menembus membrane serta melakukan sintesa, melakukan usaha menghambat reproduksi serta replikasi kuman tuberculosis[34].

Dalam studi lain juga menunjukkan hasil atau manfaat VCO pada TB. Pasien TB paru yang diberikan MDT DOTS kemudian dikombinasikan dengan tablet VCO dapat mempercepat waktu yang dibutuhkan dalam melakukan konversi komponen sputum BTA. Percepatan konversi disebabkan karena kandungan lemak jenuh rantai panjang atau disebut juga gliseril monolaurat yang berfungsi sebagai poten bakterisida untuk TB Paru sehingga menghambat replikasi dan reproduksi mycobacterium TB[35]. Selain itu, dari hasil analisis kandungan VCO, dari 84% komposisi asam lemak jenuh, terdapat 46,67% diantaranya adalah lauric acid. Selanjutnya ketika diabsorpsi ke dalam tubuh, lauric acid akan dikonversi atau mengalami perubahan menjadi gliserol monolaurat atau manolaurin. Dalam studi deteksi tingkat resistensi OAT atau mycobacterial tuberculosis dengan menggunakan teknik REMA (resazurin microtiter assay plate) menunjukkan hasil VCO dapat efektif melawan mycobacterium tuberculosis. Monolaurin dapat melawan MTB pada 313 mg/mL sementara rifampisin pada 0,0025 mg/mL[36].

Sedangkan terkait dosis VCO yang dapat memberikan efek terapeutik yang baik, VCO pada dasarnya sebaiknya terlebih dahulu diberikan dengan dosis rendah, guna memperbaiki structural hepatic, deviasi biokimia, ataupun modifikasi diet. Efek terapeutik VCO akan lebih signifikan pada LDH, SOD, MDH, dan total bilirubin[37].

Efek terapeutik VCO mulai dari proses lipolysis mulai dari mulut, berlanjut ke perut, dan selesai pada usus kecil. Adapun bentuk metabolit VCO adalah monolaurin dan monocaprin[38]. Terdapat 3 mekanisme dasar bagaimana VCO dapat melawan perkembangan mikroba yaitu 1) disintegrasi bagian membrane lipid 2) menghambat pematangan organisme patogen 3) Mencegah pertumbuhan patogen kedalam membrane sel inang. Selain itu proses penghancuran lipid juga menjadi dasar dalam aktivitas monolaurin[39].

Jika digambarkan lebih lanjut, mekanisme atau efek VCO dalam mengatasi TBC adalah kandungan anti mikroba utama pada VCO adalah gliseril monolaurat/asam laurat/asam lemak jenuh. Gliseril monolaurat adalah ester gliserol dari asam laurat yang sering kali dimanfaatkan dalam industry makanan baik sebagai kosmetik, pengawet ataupun pengemulsi dan dinyatakan aman oleh food and drug administration dalam penggunaan topical dengan dosis 100 mg/ml[40]. Namun selain itu, gliseril monolaurat dikenal juga sebagai antimikroba yang sangat ampuh dalam melawan bakteri gram positif. GML juga dikenal sebagai mikrobisida topical yang digunakan dalam

spektrum luas. Dalam pemeliharaan lingkungan GML sering digunakan sebagai pengelolaan bahan kontaminasi dan infeksi[41]. Namun demikian, literature lain menunjukkan bahwa selain keunggulan GML sebagai antimikroba, penggunaannya cenderung menurun, hal ini dikarenakan sifat larut air nya masih rendah dan tinggi leleh yang cenderung terlalu tinggi. Namun demikian formulasi terbaru berupa nanopartikel dapat menurunkan efek toksik serta efektif dalam melawan kuman BTA[42].

Gliseril monolaurat atau monolaurin selain sebagai antimikroba patogen juga dikenal sebagai antivirus yang dapat melawan berbagai jenis virus dan dapat meningkatkan system imunitas tubuh. Adapun mekanisme peran gliseril guakolat terkait fungsinya sebagai antivirus diantaranya adalah mengendalikan system sitokin pro-inflamasi, mengaktifkan leukosit, melakukan disintegrasi membrane, serta menghambat proses pematangan dan replikasi virus[43].

Komponen antibacterial VCO yang dapat meningkatkan konversi sputum adalah asam lauric acid. Lauric acid adalah senyawa bioaktif yang dapat menjadi faktor penghambat mycobacterium tuberculosis. Tingkat konsentrasi penghambatan asam laurat adalah 22,2 -66,7  $\mu\text{g/mL}$ [44]. Adapun cara kerja asam laurat dalam menghambat kinerja bakteri adalah dengan membentuk spesies oksigen reaktif (ROS) dan mengakibatkan kerusakan pada

membrane dan menghambat pembentukan biofilm, sehingga menghambat sitokin proinflamasi[45].

Adapun untuk mendapatkan efek maksimal antibacterial ataupun antivirus dari VCO, hal yang harus diperhatikan adalah proses hidrolisis dari VCO. Semakin tinggi kadar jumlah NaOH yang digunakan dalam proses hidrolisis, aktivitas antibakteri dapat meningkat. Selain itu, VCO yang dihidrolisis dengan enzim lebih efektif daripada yang menjalani proses hidrolisis dengan natrium hidroksida[46].Terkait dengan proses hidrolis VCO, berdasarkan uji aktivitas antibakteri VCO yang terhidrolisis atau disebut juga VCOH menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dengan VCO yang tanpa hidrolisis[47]. Selain itu hal yang juga berpengaruh terhadap kualitas VCO adalah lama fermentasi dan apakah menggunakan minyak induksi atau tidak[48].

Sebagai dampak positif dari pemberian VCO adalah peningkatan sputum konversi BTA. Sputum konversi adalah merupakan predictor yang paling kuat dalam menentukan efektifitas terapi TB. Konversi sputum yang ditandai dengan ditemukannya mikobakteri pada kultur sputum kasus TB yang terbentuk pada bulan kedua proses pengobatan. Konversi bulan pertama berkisar antara 60-80% sedangkan pada bulan kedua mencapai 95%. Adapun beberapa faktor pendukung dalam meningkatkan konversi sputum adalah tingkat kepatuhan dalam mengkonsumsi obat-obatan,

kebiasaan meokok, status gizi (BMI), dan kebiasaan dalam mengkonsumsi alckohol[49].

Jika referensi sebelumnya menyebutkan bahwa, VCO melalui kandugan gliseril monolaurat dapat meningkatkan konversi putum dengan menghambat replikasi dan reproduksi bakteri mycobacterium. Dalam penelitian lainnya juga menunjukkan efektifitas gliseril monolaurat dalam menghambat perkembangan bakteri streptococcus aureus dan streptococcus epidermidis dengan cara menghambat produksi enzim lipase. Kurangnya lipase dapat menjadi penghambat pertumbuhan bakteri[50]. Selain itu, manfaat VCO lainnya tidak hanya sebagai antibacterial namun juga sebagai bahan proteksi kulit yang dapat melindungi paparan sinar UV dan radiasi. Hasil uji tes krim yang mengandung VCO akan meningkatkan daya sebar namun tidak ada pengaruhnya dengan PH dan daya lekat[51].

**Tabel 4. Tabel Tinjauan Pustaka VCO**

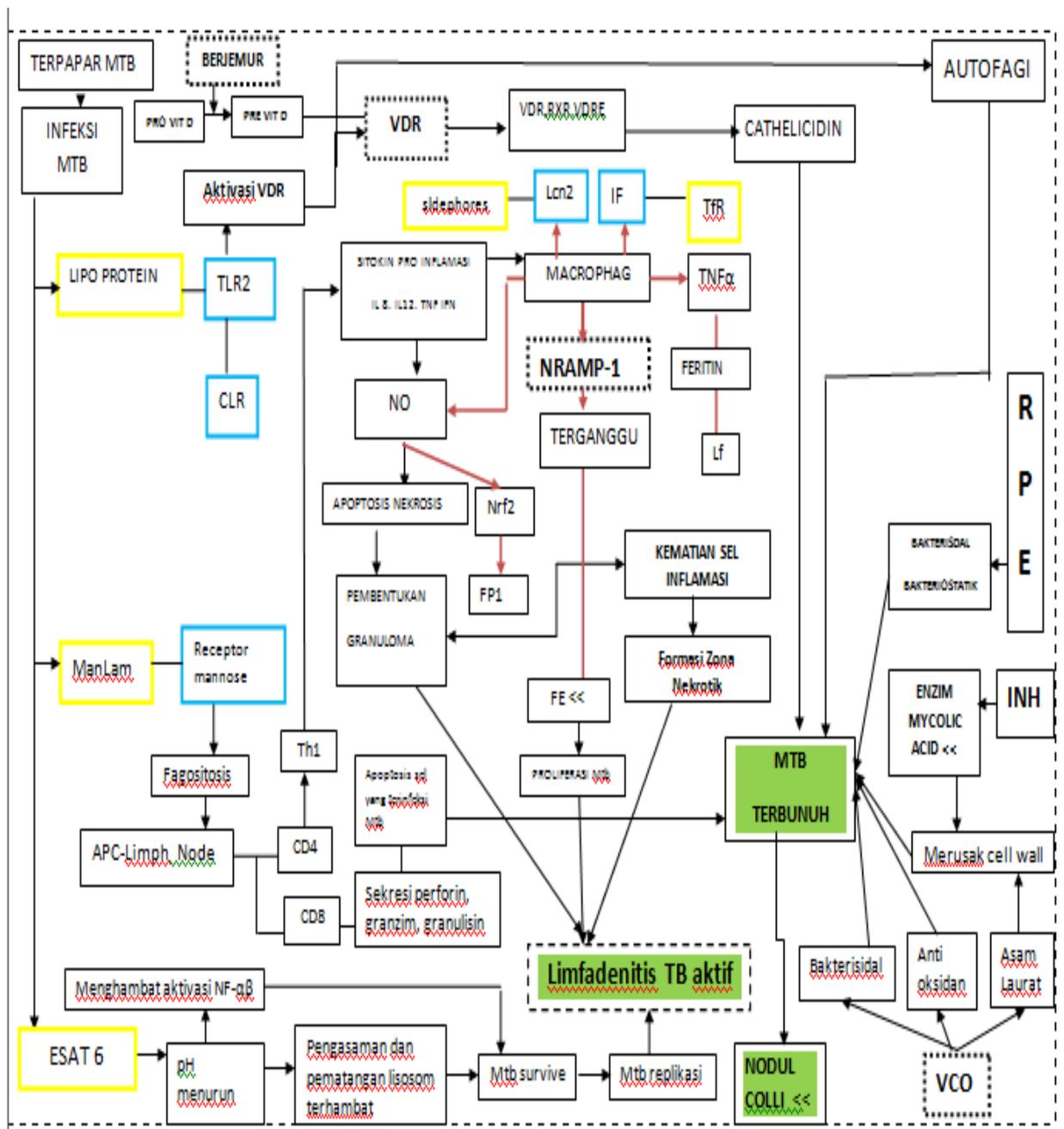
Penelitian	Luaran	Hasil
Dalmacionet al.[32].	Efek VCO dalam menurunkan Mycobacterium tuberculosis	2 merk VCO dapat menurunkan jumlah koloni mycobacterium tuberculosis, 46-100% pada media middlebrook 7H10
Montolaluet al.[33].	Efek Suplemen albumin dan VCO dengan konversi sputum dan interferon	Terdapat perbedaan tingkat interferen gamma pada kelompok intervensi yang diberikan VCO dan albumin dan kontrol pada bulan ke-3, (mean SE 38,53-13,64). Sedangkan pada bulan 1 dan ke-6 tidak ditemukan perbedaan. Pada bulan ke-6 tidak ada perbedaan karena tubuh tidak lagi memproduksi cytokines IFN-X setelah pengobatan

---

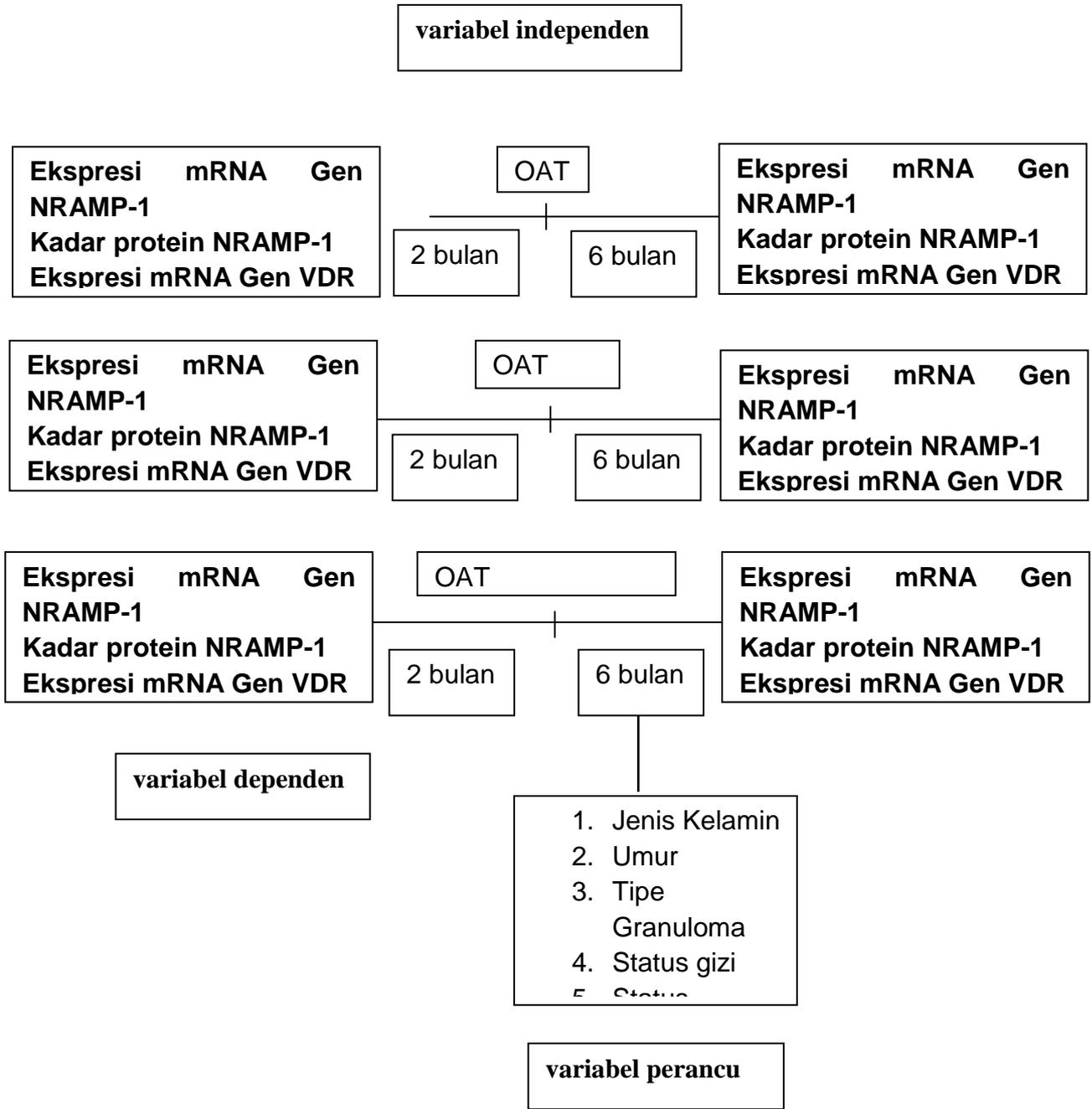
			selama 6 bulan.
Arifinet al. [35]	Percepatan sputum BTA	konversi	Kombinasi nutrisi VCO dengan albumin yang di ekstrak ikan lele menunjukkan hasil yang signifikan dalam meningkatkan imunitas tubuh, mempercepat konversi dahak BTA VCO dengan nilai P value <0,00 sedangkan konversi sputum dengan ekstrak ikan lele menunjukkan P value 0,004. Adapun kombinasi keduanya, VCO dan albumin dengan P value <0,00.
Delia [36].	Uji klinis antimikobakteri	VCO sebagai	Hasil uji klinis dengan menggunakan metode REMA (Resazurin microtiter assay), menunjukkan bahwa VCO aktif terhadap MTB H 37 Rv pada 625ug/ml dan terhadap isolat klinis dari 78 hingga 625. Sedangkan Monolaurin aktif pada 313 ug/mL terhadap MTB H 37 Rv, dan Rifampisin, pada 0,0025 g/mL. Data tersebut menunjukkan potensi tinggi VCO sebagai antimikobakteri TBC.
Kasman[12]	Peningkatan sputum BTA dan status gizi penderita TB paru dengan VCO	konversi	Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tingkat konversi sputum BTA yang mendapatkan intervensi VCO dan DOTS memiliki hasil mean 4 minggu, lebih cepat 2 minggu dari yang hanya diberikan DOTS dengan mean=6 minggu.

---

## M. Kerangka Teori



Kerangka Konsep



## **N. HIPOTESIS**

1. Terdapat perbedaan peningkatan ekspresi gen VDR sebelum terapi, 2 bulan dan 6 bulan pada kelompok Non VCO, VCO dan VCO Berjemur
2. Terdapat perbedaan peningkatan ekspresi gen VDR sebelum terapi, 2 bulan dan 6 bulan pada kelompok Non VCO, VCO dan VCO Berjemur
3. Terdapat perbedaan peningkatan kadar protein gen NRAMP-1 sebelum terapi, 2 bulan dan 6 bulan pada kelompok Non VCO, VCO dan VCO Berjemur
4. Terdapat perbedaan peningkatan kadar protein gen VDR sebelum terapi, 2 bulan dan 6 bulan pada kelompok Non VCO, VCO dan VCO Berjemur