

**PROFIL EKSPRESI GEN BUTYROPHYLIN LIKE-2 (BTNL2) DAN
KADAR PROTEINNYA PADA PENDERITA TUBERKULOSIS
AKTIF DAN LATEN**

**PROFILE EXPRESSION OF BUTYROPHYLIN LIKE-2 (BTNL2)
GENE AND THE PROTEIN LEVELS IN ACTIVE AND LATENT
TUBERCULOSIS PATIENTS**

SUBAIR

C013171026



**PROGRAM STUDI S3 ILMU KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**PROFIL EKSPRESI GEN BUTYROPHYLIN LIKE-2 (BTNL2) DAN
KADAR PROTEINNYA PADA PENDERITA TUBERKULOSIS
AKTIF DAN LATEN**

Disertasi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Doktor

Dalam Bidang Ilmu Kedokteran

Disusun dan diajukan oleh

SUBAIR

Kepada

PROGRAM STUDI S3 ILMU KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2021

DISERTASI

**PROFIL EKSPRESI GEN BUTYROPHYLIN LIKE-2 (BTNL2) DAN KADAR
PROTEINNYA PADA PENDERITA TUBERKULOSIS AKTIF DAN LATEN**

Disusun dan diajukan oleh

SUBAIR
C013171026

*Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
pada tanggal, 27 Juli 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan*

Menyetujui

Promotor,

Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D, Sp.MK
Nip. 19670910199603 1 001

Co. Promotor

Prof. Ahyar Ahmad, Ph.D
Nip. 1967123199103 1 020

Co. Promotor

Dr. dr. Irawaty Djaharuddin, Sp.P(K)
Nip. 19680910199703 1 001

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran,

dr. Agussalim Bukhar, M. Med, Ph.D, Sp.GK (K)
Nip. 19700821 199903 001

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin,



Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed
Nip. 19661273 199503 1 009

DAFTAR TIM PENGUJI

Promotor : Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D, Sp.Mk

Co Promotor : Prof. Ahyar Ahmad, Ph.D

Co Promotor : Dr. dr. Irawaty Djaharuddin, Sp.P(K)

Anggota :

- 1. Prof. Dr. dr. Muhammad Amin, Sp.P(K)**
- 2. Prof. dr Mochammad Hatta, Ph.D, Sp MK(K)**
- 3. Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, M.Sc, Sp Biok**
- 4. Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi, M.Kes**
- 5. Dr. Rosana Agus, M.Sc**
- 6. Dr. Saraswati Dwiyana, M.Si**

PRAKATA

Alhamdulillah, segala puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, atas segala karunia dan ridho-Nya, sehingga Disertasi dengan judul “*Profil Ekspresi Gen Butyrophylin Like-2 (BTNL2) dan Kadar Proteinnya Pada Penderita Tuberkulosis Aktif Dan Laten*” ini dapat diselesaikan. Disertasi ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Doktoral pada program studi S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin

Dalam penelitian maupun penyusunan disertasi ini penulis mendapatkan banyak bantuan dari berbagai pihak, untuk itu dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada **Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, MA** selaku Rektor Universitas Hasanuddin, **Prof. dr. Budu, Ph.D.,Sp.M., MMedEd** selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, **dr. Agussalim Bukhari, M.Clin, Med, Sp.GK, Ph.D** Ketua Program studi Se Kedokteran Universitas Hasanuddin yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti serta menyelesaikan pendidikan doktor pada bidang Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin

Penulis menyadari sepenuhnya tanpa bantuan berbagai pihak pada proses penelitian dan pembuatan laporan disertasi sangat sulit terwujud, oleh karena itu perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih kepada **Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, PhD., Sp.MK** sebagai **Promotor** yang dengan ikhlas meluangkan waktunya untuk membimbing dan mengarahkan penulis serta senantiasa

memberikan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi ini dengan baik, kepada **Prof. Ahyar Ahmad, PhD. Serta DR. dr. Irawati Djaharuddin, SpPD (K)** selaku co-promotor atas bantuan, bimbingan, doa dan motivasinya mulai dari awal penelitian hingga akhir penulisan tesis ini. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada **Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K), Prof. Dr. dr. Muhammad Amin, Sp.P(K), Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, Sp.Biok, Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi, M.Kes, Dr. Saraswati Dwiyana, M.Si, dan Dr. Rosana Agus, M.Si**, selaku komisi penguji atas arahan dan juga masukannya yang sangat membantu dalam penulisan disertasi ini. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada seluruh Staf S3 kedokteran Universitas Hasanuddin (pak **Akmal**, pak **Mumu** dan pak **Rahmat**) atas segala bantuan terkhusus bantuan administrasi serta selama kami menempuh pendidikan hingga selesai.

Terkhusus untuk ayahanda tercinta Umar dan Ibunda tersayang Rostiah serta Isteri tercinta Handayani Halik dan anak-anakku Muh. Yusuf Subair dan Yasmin Mumtazah Subair, penulis mengucapkan beribu-ribu terima kasih atas segala dukungannya, curahan kasih sayang, perhatian dan semangat serta doa restu yang tulus setiap saat.

Tak lupa pula penulis ucapkan terima kasih kepada staf Laboratorium HUM-RC FK. Unhas yang memudahkan dan mambantu penulis selama melalukan penelitian di Lab TB HUM-RC. Terima kasih pula kepada semua pihak dan rekan-rekan yang tidak penulis sebutkan satu demi satu yang dengan

keikhlasannya memberikan bantuan serta senantiasa mendoakan untuk kelancaran dalam penelitian dan keberhasilan penulisan disertasi ini. Semoga semua amalan di balas oleh Allah SWT sebagai amal soleh. Amin

Harapan penulis semoga disertasi ini dapat bermanfaat terutama bagi penembangan ilmu pengetahuan, sesungguhnya semua terwujud atas petunjuk Allah SWT, semata. Mudah-mudahan Ridha-Nya senantiasa mengiringi setiap langkah dan usaha kita semua. Amin.

Makassar, 03 desember 2021

Subair

ABSTRAK

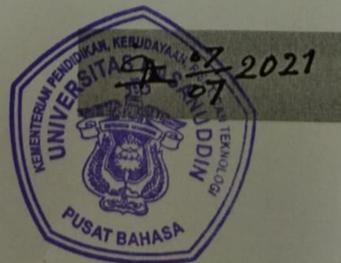
SUBAIR. *Profil Ekspresi Gen Butyrophilin Like-2 (BTNL-2) dan Kadar Proteinnya pada penderita Tuberkulosis Aktif dan Laten (dibimbing oleh Nasrum Massi, Ahyar Ahmad, dan Irawaty Djaharuddin).*

Penelitian ini bertujuan mengetahui ekspresi gen BTNL-2 serta n kadar proteinnya pada penderita TB aktif dan laten yang terkait dengan kerentanan terhadap infeksi TB. Penelitian ini juga bertujuan memahami karakteristik dari berbagai status imunologi infeksi TB lebih baik dan untuk mengidentifikasi biomarker imun potensial yang dapat membedakan penyakit aktif dari infeksi laten dalam hal gen BTNL-2.

Penelitian ini menganalisis kadar BTNL-2 dari penderita tuberkulosis dengan pewarnaan BTA positif (pewarnaan ZN), kontak rumah tangga, dan kesehatan mereka sebagai sampel kontrol dengan metode ELISA. Untuk sampel kontak dan kontrol rumah tangga dilakukan skrining infeksi TB laten dengan menggunakan Quanti FERON_TB Gold Plus (IGRA). Perbandingan nilai ekspresi gen BTNL-2 di kelompok TB aktif sebesar 6,4 kali lebih tinggi daripada orang sehat dan pada TB laten 3,3 kali lebih tinggi daripada kelompok sehat.

Hasil pemeriksaan kadar BTNL-2 menunjukkan terdapat perbedaan bermakna ($p=0,000$) antara kadar BTNL-2 kelompok TB aktif, TB laten, dan sehat (kelompok kontrol) karena nilai rerata tertinggi diperlihatkan oleh kelompok TB aktif ($mean = 1.112,1$ ng/ml) dan nilai terendah terdapat di kelompok sehat ($mean = 331,6$ ng/ml). Artinya, ekspresi gen dan kadar BTNL-2 dapat digunakan sebagai biomarker untuk pengidentifikasian penderita TB paru dan TB laten dari spesimen plasma.

Kata kunci: ekspresi gen, kadar protein, BTNL-2, tuberkulosis, laten



ABSTRACT

SUBAIR. *Profile Expression of Butyrophilin Like-2 (Btl2) Gene and the Protein Levels in Active and Latent Tuberculosis Patients* (supervised by **Nasrum Massi, Ahyar ahmad, dan Irawaty Djaharuddin**)

The aims of this research are to determine the expression of the BTNL2 gene and protein levels in patients with active and latent TB which are associated with susceptibility to TB infection, find out the characteristics of various immunological statuses of TB infection better, and investigate potential immune biomarkers that could differentiate active disease from latent infection in terms of BTNL2 gene.

This study analyzed BTNL2 level of tuberculosis patients with positive smear staining (ZN staining), household contact, and their health as a control sample using the ELISA method. For household contact and control samples, screening for latent TB infection was carried out using QuantiFERON-TB Gold Plus (IGRA). The comparison of the BTNL2 gene expression value in active TB group was 4.6 times higher than in healthy people and 3.3 times higher in latent TB than in healthy group point of interest Salt Lake M Peak.

BTNL2 level examination results show that there is a significant difference ($p = 0.000$) between BTNL2 level in active, latent, and healthy groups of Tb (control group) in which the highest mean value is shown in active Tb group (mean = 1112.1 ng/ml) and the lowest value is in healthy group (mean = 331.6 ng/ml). From the results of this study, it can be concluded that gene expression and BTNL2 level can be used as biomarkers for the identification of patients with pulmonary tuberculosis and latent TB from plasma specimens.

Key words: gene expression, protein content, BTNL2, tuberculosis, latent





KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Makassar 90245 Telp.(0411)586010,(0411)586297
EMAIL : s3kedokteranunhas@gmail.com

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : SUBAIR
NIM : C013171026
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

Profil Ekspresi Gen Butyrophylin Like-2 (BTNL2) dan Kadar Proteinnya Pada Penderita Tuberkulosis Aktif dan Laten.

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

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

Makassar, 20 Agustus 2021

Yang menyatakan,


SUBAIR

DAFTAR ISI

Contents

LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
DAFTAR TIM PENGUJI	iiiiv
PRAKATA	iv
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
PERNYATAAN NON PLAGIASI	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
BAB I.....	1
PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	5
1. Tujuan Umum.....	5
2. Tujuan Khusus.....	5
D. Manfaat Penelitian.....	5
1. Bidang Akademik	5
2. Bidang Klinik	5
BAB II.....	7
TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Tinjauan Umum Penyakit Tuberkulosis	7

1. Definisi Tuberkulosis.....	7
2. Patogenitas TB Paru	7
3. TB Laten dan TB aktif.....	10
4. Klasifikasi Tuberkulosis	11
5. Diagnosis Tuberkulosis Paru.....	14
6. Tes Tuberkulin	15
B. Tinjauan Tentang Bakteri <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	17
1. Morfologi Bakteri <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	17
2. Taksonomi <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	19
3. Genom <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	20
4. Fisiologi Pertumbuhan.....	22
5. Sistem Imun.....	23
6. Butyriphilin Like-2 (BTNL-2)	28
7. Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR).....	34
8. Tinjauan Ekspresi Gen	37
9. Kerangka Teori.....	39
10. Kerangka konsep.....	40
11. Hipotesis.....	41
BAB III	42
METODE PENELITIAN.....	42
A. Rancangan Penelitian.....	42
B. Lokasi dan Jadwal Penelitian	42
C. Populasi, sampel dan jumlah sampel	42
1. Populasi.....	42
2. Sampel.....	42
3. Jumlah Sampel	42
D. Kriteria Inklusi Dan Eksklusi Batasan Pemilihan Sampel.....	42
1. Kriteria Inklusi	42
2. Kriteria Eksklusi.....	43
E. Defenisi Operasional Variabel Penelitian	43
F. Cara Kerja.....	44

1. Langkah-Langkah Pengumpulan Sampel	44
2. Pemeriksaan Sputum	45
3. Dekontaminasi Sputum	45
4. Smear dengan Pewarnaan Ziehl-Neelsen.....	46
5. Kultur Pada Medium Cair MGIT 960 (Mycobacteria Growth Indicator Tube).....	46
6. Pemeriksaan Pemeriksaan QuantiFERON-TB Gold In-Tube.....	46
7. Ekstaksi RNA dari sampel darah.....	48
Step 1. Cell Lysis :.....	48
8. Amplifikasi complementaryDNA (cDNA) dengan Reverse Transcriptase-PCR.....	50
9. Pemeriksaan ekspresi gen BTNL2 dengan real timePCR.....	51
10. Pemeriksaan Kadar BTNL-2	51
11. Analisa Data.....	53
G. Alur penelitian.....	54
BAB IV	55
HASIL DAN PEMBAHASAN	55
A. Hasil Penelitian.....	55
a. Karakteristik Data.....	55
b. Penentuan Tingkat Ekspresi mRNA Gen BTNL2 dengan <i>real-time</i> PCR (qPCR)	57
c. Pemeriksaan kadar ekspresi mRNA gen BTNL2 pada kelompok Tb aktif, Tb laten dan normal	58
d. Distribusi kadar protein BTNL2 pada kelompok Tb aktif, Tb laten dan normal	59
B. PEMBAHASAN.....	61
BAB V.....	67
KESIMPULAN DAN SARAN	67
A. Kesimpulan	67
B. Saran	67
Daftar Pustaka	68
Lampiran 1. Kuisioner	73

Lampiran 2. Hasil Pemeriksaan Ekspresi Gen BTNL2	79
Lampiran 3. Primer BLAST Gen BTNL2.....	88
Homo sapiens butyrophilin like 2 (BTNL2), mRNA	88

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Sistem klasifikasi tuberkulosis (CDC, 2013).....	13
Tabel 2. Karakteristik subyek penelitian pada kelompok TB aktif, TB laten dan sehat.....	56
Tabel 3. Perbedaan ekspresi mRNA gen BTNL2 pada kelompok TB aktif, TB laten dan sehat.....	59
Tabel 4. Perbandingan Aktifitas Kadar protein plasma BTNL2 pada Kelompok TB Aktif, Laten dan Sehat.....	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur morfologi <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (Kaihena, 2013)	17
Gambar 2. Peta Genom <i>M. tuberculosis</i> (Cole, <i>et al.</i> , 1998).	20
Gambar 3. Mekanisme dari sistem imun alami yang menyediakan pertahanan awal dari proses infeksi.....	24
Gambar 4. Respon imun alami terhadap bakteri intraseluler terdiri atas sel fagosit dan sel NK, interaksi diantaranya dimediasi oleh sitokin (IFN- γ dan IL-12).	27
Gambar 5. Tipe sistem imun adaptif.....	28
Gambar 6. Organisasi domain anggota keluarga B7, BTN dan BTNL manusia. .	29
Gambar 7. Posisi gen BTNL2 pada kromosom nomor 6 (Uniprot, 2018).....	33
Gambar 8. Kurva melting pada saat amplifikasi gen BTNL2 (a) dan reference gene GADPH (b)	57
Gambar 9. <i>Bar chart</i> nilai rerata hasil pengukuran ekspresi mRNA gen BTNL2 pada kelompok TB aktif, TB laten dan normal.....	58
Gambar 10. Perbandingan rerata kadar BTNL2 plasma pada kelompok Tb aktif, Tb laten (Kontak dengan IGRA positif) dan sehat (IGRA negatif). ...	59

DAFTAR SINGKATAN

TB	: Tuberculosis
BTA	: Basil Tahan Asam
MDR	: Multi Drug Resistent
XDR	: Extensively Drug Resisten
BTNL2	: Buthyrophilin Like-2
WHO	: World Health Organisation
TCR	: T cell reseptor
NFAT	: Nuclear factor of activated T-cells
NFkB	: Nuclear Factor-kappaB
AP-1.	: Activator Protein 1
TBC	: Tuberkulosis
OAT	: Obat Anti Tuberkulosis
TST	: Tuberculin skin test
IGRA	: Interferon Gamma Release Assays
LED	: Laju endap darah
PCR	: polymerase chain reaction
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
ICT	: Immunochoomatografi
LAM	: Lipoarabinomannan
DTH	: delayed-type hypersensitivity
pH	: Potential Hydrogen

kDa	: kiloDalton
BAC	: bacterial artificial chromosomes
DNA	: array dan deoxyribonucleat acid
BCG	: <i>Mycobacterium bovis bacillus calmette Guerin</i>
RD 1	: Regions of Differences 1
ORF	: open reading frame
CFP-10	: culture filtrate protein
ESAT	: Early secreted antigenic target
LJ	: Lowenstein–Jensen
sel NK	: Natural Killer
HLA	: Human Leukocyte Antigen
RT-PCR	: Real Time Polymerase chain Reaction
AP	: Posterior Anterior
MDR	: Multi drug resistant
IFN- γ	: Interferon Gamma
IL	: Interleukin
IGRA	: Interferon Gamma Release Assays
MHC	: Major Histocompatibility Complex
M.tb	: <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
BACTEC	: <i>Becton Dickinson Diagnostic Instrument System</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Kuisisioner	73
Lampiran 2. Hasil Pemeriksaan Ekspresi Gen BTNL2	79
Lampiran 3. Primer BLAST Gen BTNL2.....	88

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri, yang mengakibatkan sekitar 10,4 juta kasus baru dan 1,7 juta kematian pada 2016. Lebih dari 90 % dari kasus TB tersebut terjadi pada negara-negara dengan pendapatan rendah dan sedang yang memiliki prasarana dan sumberdaya yang terbatas. Tujuh negara mencakup 64% dari total kasus TB, dengan India di urutan teratas, diikuti oleh Indonesia, Cina, Filipina, Pakistan, Nigeria, dan Afrika Selatan. Berdasarkan laporan WHO 2017 diperkirakan ada 1.020.000 kasus di Indonesia, namun baru dilaporkan ke Kementerian Kesehatan sebanyak 420.000 kasus.

Sulawesi Selatan (Sulsel) menjadi provinsi dengan angka kasus penyakit tuberkulosis (TB) yang terbilang tinggi. Kasus terbanyak bahkan tercatat di Ibu Kota Makassar. Berdasarkan data yang diperoleh dari Bidang Bina P2PL Dinas Kesehatan Kota Makassar, kasus baru penderita TB Paru BTA (+) di Puskesmas dan Rumah Sakit tahun 2016 yaitu sebanyak 1.874 penderita dari 2373 perkiraan sasaran sehingga diperoleh Angka Penemuan Kasus Baru TB BTA (+) yaitu 78,97%. Angka ini meningkat dibandingkan tahun 2015 yaitu 1.928 penderita dari 2.600 perkiraan sasaran sehingga didapatkan Angka Penemuan Kasus Baru TB BTA (+) yaitu 74,15%. Pada tahun 2014 Angka Penemuan Baru TB BTA (+) kasus) penyakit TB per 100.000 penduduk selama 3 tahun terakhir juga meningkat

yaitu tahun 2016 sebanyak 271/100.000 penduduk meningkat dari tahun 2015 yaitu 249/100.000 penduduk dan pada tahun 2014 yaitu 247/100.000 penduduk.

Proses penemuan penyakit TB dilakukan oleh pengelola TB masing-masing puskesmas melalui pelacakan/pencarian kasus baru, pelacakan penderita mangkir dan pemeriksaan kontak. Dalam rangka penanganan kasus TB di Kota Makassar, beberapa kegiatan dilaksanakan diantaranya pertemuan Validasi Data Program TB untuk melihat hasil pencapaian kegiatan pada setiap Unit Pelayanan baik di Puskesmas maupun Rumah Sakit untuk mendapatkan data yang akurat di fasilitas pelayanan kesehatan. Disamping itu juga dilakukan pertemuan diseminasi TB MDR bagi tenaga kesehatan dan sosialisasi TB MDR bagi lintas sektor untuk mencegah TB resisten obat agar tidak menjadi masalah kesehatan masyarakat dengan memutuskan mata rantai penularan, serta terjadinya extensively drugs resisten TB (TB XDR) (Dinkes, 2017).

Bakteri yang bertanggung jawab untuk TB, yang disebut *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), ditularkan oleh orang-orang yang terinfeksi TB paru (paru) yang melepaskan Mtb ke udara melalui batuk, bersin atau meludah (WHO, 2017). Setelah terpapar kuman TB ada empat keadaan yang bisa terjadi yaitu pertama tidak terjadi infeksi (ditandai dengan tes kulit tuberkulin yang negatif), kedua terjadi infeksi kemudian menjadi TB yang aktif (TB primer), ketiga menjadi TB laten dimana mekanisme imun mencegah progresivitas penyakit menjadi TB aktif dan keempat menjadi TB laten tetapi kemudian terjadi reaktivasi dan berkembang menjadi TB aktif dalam beberapa bulan sampai beberapa tahun kemudian. Infeksi TB laten ini didefinisikan sebagai kondisi seseorang yang terinfeksi *M.*

tuberculosis tetapi saat ini orang tersebut tidak sakit, tidak mempunyai gejala/*asymptomatic* dan gambaran foto toraks normal (Martin dan Hasibuan, 2010).

Sekitar 1/3 penduduk dunia membawa penyakit tetapi tidak memiliki gejala apa pun (dikenal sebagai infeksi laten), namun sekitar 10% dari orang-orang ini kemungkinan akan mengembangkan penyakit aktif selama masa hidup mereka dan menjadi mampu menularkan bakteri (WHO, 2017). Tuberkulosis laten didefinisikan sebagai infeksi *Mtb* yang menetap dalam makrofaq tanpa replikasi, tetapi memiliki kemampuan secara laten dan bisa menimbulkan penyakit aktif apabila terjadi gangguan respon imun (Ahmad, 2011).

Namun, banyak pasien tidak memiliki faktor risiko yang mendasari yang jelas, dan sekarang ada bukti yang meyakinkan bahwa variabilitas individu dalam kerentanan tuberkulosis sebagian ditentukan oleh gen inang (Richard bellamy, 2000). Sebuah konsep baru yang menunjukkan predisposisi efek genetik pada reaktivasi TB telah banyak diteliti beberapa tahun terakhir. Beberapa gen yang berkaitan dengan kerentanan terhadap penyakit Tb telah diidentifikasi, salah satunya gen BTNL2 yang merupakan gen yang berada di perbatasan daerah antara MHC kelas II dan kelas III. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Velentonyte *et al*, 2005 menunjukkan bahwa *Mtb* dan lipopolisakarida dalam turunan monosit makrofag manusia dapat menginduksi tingkat ekspresi BTNL2 menjadi lebih tinggi. BTNL2 ini merupakan salah satu ligan inhibitor khusus karena memiliki hubungan genetik yang sangat kuat dengan autoimun manusia dan penyakit radang. Gen ini mengkodekan kompleks histocompatibility utama, kelas II terkait,

tipe I transmembran protein yang termasuk keluarga B7 immunoregulator yang mirip butyrophilin. Diperkirakan terlibat dalam pengawasan kekebalan, berfungsi sebagai regulator sel-T negatif dengan mengurangi proliferasi sel-T dan pelepasan sitokin. Protein yang dikodekan mengandung peptida sinyal N-terminal, dua pasang domain mirip immunoglobulin, dipisahkan oleh urutan peptida heptad, dan domain transmembran C-terminal (Uniprot, 2018).

Penelitian yang dilakukan oleh Thang Nguyen. Et al (2006) menemukan, karakterisasi BTNL2 menghasilkan protein fusi BTNL2 yang secara signifikan mempengaruhi ekspresi dari sel B dan sel T setelah diaktivasi. BTNL2 menghambat proliferasi sel T dan aktivasi TCR, NFAT, NF- B, dan jalur sinyal AP-1.

Identifikasi gen yang terlibat dalam penyakit adalah alat penting untuk mengungkapkan mekanisme molekuler perkembangan penyakit dan untuk pengembangan obat baru. Banyak penelitian telah dilakukan untuk memperjelas sitokin dan respon kemokin terhadap antigen spesifik *Mtb* yang terlibat dalam perkembangan dari infeksi laten menjadi penyakit aktif. Untuk lebih memahami karakteristik imunologi status infeksi TB yang berbeda dan untuk mengidentifikasi potensial immune biomarker yang dapat membedakan penyakit aktif dari infeksi laten, kami melakukan analisis ekspresi gen dan kadar BNTL2 dari subyek dengan TB paru aktif, TB Laten dan orang sehat.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan hal-hal tersebut di atas, maka dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Apakah ada perbedaan ekspresi gen BTNL2 antara penderita TB aktif dan TB laten?
2. Apakah ada perbedaan rasio kadar BTNL2 serum antara penderita TB aktif dan TB laten?
3. Apakah ada korelasi antara ekspresi gen BTNL2 dengan kejadian TB aktif?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk melihat dinamika ekspresi gen BTNL2 yang terjadi pada penderita TB aktif dan TB laten.

2. Tujuan Khusus

- a. Membandingkan ekspresi gen BTNL2 antara penderita TB aktif dengan TB laten.
- b. Membandingkan rasio kadar sitokin BTNL2 antara penderita TB aktif dengan TB laten
- c. Mengidentifikasi korelasi antara ekspresi gen BTNL2 pada penderita TB aktif dengan TB laten.

D. Manfaat Penelitian

1. Bidang Akademik

Memberi informasi tentang ekspresi gen serta kadar sitokin BTNL2 pada penderita TB aktif dan TB laten.

2. Bidang Klinik

Menyumbangkan informasi ilmiah tentang dinamika ekspresi gen BTNL2 pada penderita TB aktif dan TB laten, serta dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian lebih lanjut mengenai *Host susceptibility gene* pada penderita TB

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Tinjauan Umum Penyakit Tuberkulosis

1. Definisi Tuberkulosis

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh basil *Mycobacterium tuberculosis (Mtb)* complex, sebagian besar pada manusia disebabkan oleh spesies *Mtb*. Sebagian besar kuman TB menyerang paru, tetapi dapat juga mengenai organ tubuh lainnya. Biasanya ditransmisikan dari satu orang ke orang lainnya melalui *airborne droplet* (WHO, 2017).

Dalam sejarah, penyakit TB sama dengan penyakit menular lainnya seperti cacar, pes dan kolera yang pernah menyebar luas di seluruh dunia. Tanggal 24 Maret 1882, sarjana Jerman Robert Koch mengumumkan telah menemukan mikobakteria berupa bakteri patogenik TB, penemuan itu telah mendatangkan terobosan bagi pengontrolan TB. Selanjutnya seiring dengan berhasilnya penelitian dan pembuatan obat-obatan anti TB, pandemik TB dapat dikontrol dengan efektif dan ternyata musnah di sejumlah daerah. Untuk memperingati penemuan Robert Koch, WHO dan Uni Internasional Anti TB dan Penyakit paru-paru menetapkan tanggal 24 Maret setiap tahun sebagai hari TB sedunia (Todar, 2012)

2. Patogenitas TB Paru

TB biasanya menular melalui udara yang tercemar dengan bakteri *Mtb* yang dilepaskan pada saat penderita TB batuk atau bersin, penderita menyebarkan

bakteri ke udara dalam bentuk *droplet nuclei* (percikan dahak). Pada anak-anak sumber infeksi umumnya berasal dari penderita TB dewasa. Bakteri *Mtb* bila sering masuk dan terkumpul di dalam paru-paru akan berkembang biak menjadi banyak (terutama pada orang dengan daya tahan tubuh yang rendah) dan dapat menyebar melalui pembuluh darah atau kelenjar getah bening. Oleh sebab itu infeksi TB dapat menginfeksi hampir seluruh organ tubuh seperti : paru-paru, otak, ginjal, saluran pencernaan, tulang, dan kelenjar getah bening, meski demikian organ tubuh yang paling sering terkena yaitu paru-paru (Jumiarti, 2007).

Mtb ke dalam tubuh terhirup melalui saluran pernapasan. Sebelum masuk ke saluran nafas bawah, pada tahap awal (tahap I), hambatan fisik adalah nasofarings dan saluran pernapasan bagian atas oleh system pertahanan mukosilier bronkus pada ephitel bronchus (anti microbial peptide), karena ukurannya kecil (1 – 5 um) memungkinkan untuk masuk ke dalam saluran pernapasan bagian bawah (Ahmad, 2011 dan Handayani dkk., 2009) dengan cara menembus sistem mukosilier saluran nafas kemudian mencapai dan bersarang di *bronchioles* dan *alveolus* untuk selanjutnya makrofag alveolar menelan (memfagosit) basil dan sering menghancurkannya. Penghancuran mikobakteri tergantung pada kekuatan *microbicidal instrinsik host* memfagosit basil dan faktor virulensi mikobakteri yang tertelan. Akan tetapi pada sebagian kecil kasus makrofag tidak mampu menghancurkan kuman TB dan kuman akan bereplikasi dalam makrofag.

Kuman TB dalam makrofag akan terus berkembang biak, akhirnya akan membentuk koloni di tempat jaringan paru disebut “Fokus primer” atau GOHN.

Dari fokus primer, kuman TB menyebar melalui saluran limfe menuju kelenjar limfe regional, yaitu kelenjar limfe yang mempunyai saluran limfe ke lokasi fokus primer. Penyebaran ini menyebabkan terjadinya inflamasi di saluran limfe (limfangitis) dan di kelenjar limfe (limfadenitis) yang terkena. Jika fokus primer terletak di lobus paru bawah atau tengah, kelenjar limfe dan akan terlibat adalah kelenjar limfe parahilus, sedangkan jika fokus primer terletak di apeks paru, yang akan terlibat adalah kelenjar paratrakeal. Kompleks primer merupakan gabungan antara fokus primer, kelenjar limfe regional yang membesar (limfadenitis) dan saluran limfe yang meradang (limfangitis). Fokus primer di jaringan paru biasanya mengalami resolusi secara sempurna membentuk fibrosis atau kalsifikasi setelah mengalami nekrosis perkijuan (lesi primer) dan enkapsulasi.

Mikobakteri yang tidak sempat dihancurkan *intracellular* tahap awal melarikan diri dan berkembang biak akibat gagalannya makrofag memfagosit basil TB. Pada tahap kedua monosit dan sel inflamasi tertarik ke paru-paru, monosit berdiferensiasi menjadi makrofag hingga dengan mudah akan menelan kuman TB, tetapi tidak menghancurkannya. Dua sampai tiga minggu setelah infeksi kekebalan antigen spesifik limfosit T yang berkembang biak di dalam lesi awal berupa tuberkel, kemudian mengaktifkan makrofag membunuh mikobakteri intraseluler. Setelah fase ini pertumbuhan awal logaritmik mikobakteri tahap ketiga terhenti. Akibat adanya lesi primer sehingga menghambat pertumbuhan mikobakteri ekstraseluler, akibatnya infeksi dapat menjadi tidak aktif atau tidur (*persisten* atau *dormant*). Penyakit dapat berkembang lewat penyebaran hematogen yang terjadi setelah infeksi primer pada beberapa bulan atau beberapa

tahun setelah *tuberculosis post primer*. Dalam kondisi imunitas menurun, *liquefied caseous* fokus memberikan kondisi yang sangat baik untuk pertumbuhan ekstraseluler *Mtb*. Pembentukan rongga *caverne* menyebabkan pecahnya saluran pernapasan di dekatnya memungkinkan basil menyebar melalui saluran udara ke bagian lain dari paru-paru dan lingkungan luar (Van Crevel dkk., 2010)

3. TB Laten dan TB aktif

TB disebabkan oleh suatu bakteri (kuman). Ini merupakan penyakit yang biasanya menyerang paru-paru tetapi juga dapat menyerang bagian lain tubuh, seperti otak, ginjal atau tulang punggung. TBC bisa aktif dalam tubuh atau laten (diam). Jika tidak dirawat, TB aktif dapat mengakibatkan masalah kesehatan yang serius, bahkan kematian (NSW, 2010).

Infeksi TB laten adalah suatu keadaan seorang terinfeksi TB namun tidak didapatkan bukti klinis maupun mikrobiologis sakit TB. Diagnosis dan penatalaksanaan TB laten merupakan salah satu tantangan pemberantasan TB karena tidak ada bukti klinis dan mikrobiologis, namun pada populasi dengan TB laten 10% akan berkembang menjadi TB aktif. Seseorang dengan TB laten, risiko menjadi TB aktif lebih tinggi apabila terjadi perubahan secara klinis, epidemiologis atau gambaran radiologis. Satu-satunya metode yang digunakan secara luas untuk menilai infeksi TB laten adalah uji tuberkulin atau sering dikenal sebagai mantoux test (Subagyo, Ahmad., 2013).

Tuberkulosis laten didefinisikan sebagai keadaan asimtomatik dengan karakteristik adanya respon sel T spesifik mikobakterium ditandai dengan hasil uji tuberkulin positif, tidak ada manifestasi klinis TB paru atau ekstra paru, dan tidak

ada bukti sembuh dari sakit TB. Hanya sebagian kecil individu yang penderita TB laten yang mengalami perkembangan menjadi sakit TB. Jumlah kuman pada TB laten tidak cukup menyebabkan sakit TB. Tuberkulosis laten mempunyai karakteristik dorman dan metabolisme kuman *Mycobacterium tuberculosis* bersifat inaktif (Panjaitan, 2014).

4. Klasifikasi Tuberkulosis

Berdasarkan lokasi anatomi infeksi, TB dibagi menjadi TB Paru dan TB ekstraparu. Tuberkulosis paru menyerang jaringan paru, tidak termasuk pleura. Sedangkan TB ekstra paru menyerang organ tubuh lainnya, seperti kelenjar limfe, meninges, tulang, ginjal, dan lain-lain (PDPI, 2011).

1. Berdasarkan hasil pemeriksaan basil tahan asam (BTA)

Berdasarkan hasil pemeriksaan BTA, TB paru terbagi menjadi :

a. Tuberkulosis paru BTA positif

- Sekurang-kurangnya 2 dari 3 spesimen sputum menunjukkan BTA positif
- Satu spesimen sputum menunjukkan BTA positif dan foto toraks menunjukkan gambaran TB aktif.
- Satu spesimen BTA sputum positif dan biakan basil TB positif
- Satu atau lebih spesimen sputum menunjukkan BTA positif setelah 3 spesimen pada pemeriksaan sebelumnya negatif, dan tidak ada perbaikan setelah pemberian antibiotik spektrum luas (PDPI, 2011; Kemenkes RI, 2011).

b. Tuberkulosis paru BTA negatif

Adalah kasus yang tidak memenuhi defenisi pda TB paru BTA positif yaitu :

- Spesimen sputum 3 kali menunjukkan BTA negatif, gejala klinis dan foto toraks menunjukkan gambaran TB aktif, serta tidak berespons dengan antibiotik spektrum luas.
- Spesimen sputum 3 kali BTA negatif dan biakan basil TB positif
- Ditentukan/dipertimbangkan oleh dokter untuk diberi pengobatan obat antituberkulosis (OAT) (PDPI, 2011; kemenkes RI, 2011).

2. Berdasarkan tipe penderita

Klasifikasi ini ditentukan berdasarkan riwayat pengobatan penderita sebelumnya. Ada beberapa tipe yaitu :

- a. Kasus baru : penderita belum pernah mendapat terapi OAT atau sudah pernah menelan OAT < 1 bulan (30 dosis harian)
- b. Kasus kambuh (*relaps*) : penderita TB pernah mendapat pengobatan TB lengkap atau telah dinyatakan sembuh, kemudian berobat kembali dengan hasil pemeriksaan BTA sputum positif atau biakan *Mtb* positif.
- c. Kasus pindahan (*transfer in*) : penderita yang mendapat pengobatan disatu kabupaten kemudian pindah berobat ke kabupaten lain.
- d. Kasus lalai berobat : penderita sudah berobat minimal 1 bulan, dan berhenti 2 minggu atau lebih, kemudian datang kembali berobat (umumnya kembali dengan BTA positif).
- e. Kasus gagal :

- Penderita BTA positif yang masih tetap positif atau kembali menjadi positif pada akhir bulan ke – 5 (1 bulan sebelum akhir pengobatan).
 - Penderita BTA negatif radiologi positif menjadi BTA positif diakhir bulan ke-2 terapi dan/ atau gambaran radiologi kontrol memburuk.
- f. Kasus kronik : penderita dengan hasil BTA masih positif setelah selesai pengobatan kategori 2.
- g. Kasus bekas TB :
- Hasil BTA negatif dengan gambaran radiologis menunjukkan lesi TB inaktif, gambaran radiologis serial menetap.
 - Jika gambaran radiologis meragukan lesi TB aktif dan setelah mendapat OAT 2 bulan tidak ada perubahan gambaran radiologis (PDPI, 2011; Kemenkes RI, 2011).

3. Berdasarkan patogenesis penyakit

Sistem klasifikasi klinis TB terkini yang digunakan amerika serikat didasarkan pada patogenesis penyakit seperti yang disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Sistem klasifikasi tuberkulosis (CDC, 2013)

Kelas	Tipe	Deskripsi
0	<ul style="list-style-type: none"> - Tidak ada paparan TB - Tidak terinfeksi 	<ul style="list-style-type: none"> - Tidak ada riwayat paparan TB dan tidak ada bukti infeksi atau penyakit TB - Reaksi tes TST atau IGRA negatif
1	<ul style="list-style-type: none"> - Paparan TB - Tidak ada gejala infeksi 	<ul style="list-style-type: none"> - Ada riwayat paparan <i>M. Tuberculosis</i> - Reaksi tes TST atau IGRA negatif (dilakukan pada 8-10 minggu setelah

		paparan)
2	<ul style="list-style-type: none"> - Infeksi TB - Tidak ada penyakit TB 	<ul style="list-style-type: none"> - Reaksi tes TST atau IGRA positif - BTA sputum dan kultur basil TB negatif, tidak ada bukti TB aktif
3	<ul style="list-style-type: none"> - Tb Klinis aktif 	<ul style="list-style-type: none"> - Kultur basil TB positif atau - Tes TST atau IGRA positif, disertai bukti TB aktif (klinis, bakteriologis dan radiologis)
4	<ul style="list-style-type: none"> - Riwayat TB (secara klinis tidak aktif) 	<ul style="list-style-type: none"> - Riwayat medis penyakit TB - Gambaran radiologis abnormal stabil - Reaksi
5	<ul style="list-style-type: none"> - Suspek TB 	<ul style="list-style-type: none"> - Tanda dan gejala TB aktif, tetapi pemeriksaan belum mencukupi

Keterangan: TST: *tuberculin skin test*; IGRA: *interferon gamma release assay*

5. Diagnosis Tuberkulosis Paru

Dalam penegakan diagnosis TB paru dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu: anamnesis pada pemeriksaan fisik, laboratorium darah rutin (LED, monosit, limfositosis), pemeriksaan sputum BTA, pemeriksaan kultur yang merupakan *gold* standar bagi diagnosis TB, metode cepat uji resistensi obat (uji diagnostic molekuler cepat), *genXpert assay*, Uji tuberculin (mantoux test), *Polymerase chain reaction* (PCR) TB, Uji serologi: *Enzyme linked immunoabsorbent assay* (ELISA), mycodot, peroksidase anti peroksidase (PAP) dan uji serologi yang baru (IgG TB dan uji ICT), *Becton Dickinson Diagnostic*

Instrument System (BACTEC), pemeriksaan antigen lipoarabinomannan (LAM), ELISA *urinary antigen test* dan diagnosis TB ditegakkan berdasarkan terdapat paling sedikit satu specimen konfirmasi *M. tuberculosis* atau sesuai dengan gambaran histologi TB atau bukti klinis dan radiologis sesuai TB (Kemenkes RI, 2013).

Rangkaian pemeriksaan tersebut dan identifikasi mikroorganisme dalam secret atau jaringan pasien merupakan hal utama dalam mendiagnosis tuberculosis, tetapi proses tersebut agak sulit dan mempunyai keterbatasan. Hasil pemeriksaan BTA (+) dari sputum memerlukan kurang lebih 5000 kuman/ml. Kuman (+) pada biakan dibutuhkan sekitar 50 – 100 kuman/ml dan waktu pertumbuhan kurang lebih 4 – 8 minggu. Apabila terdapat gambaran infiltrate di lobus atas dan kaviti pada foto polos toraks, maka kemungkinan terjadinya TB paru 80 – 85% (Palomino, 2007).

6. Tes Tuberkulin

Uji tuberkulin merupakan salah satu dasar kenyataan bahwa infeksi oleh *M. tuberculosis* akan menyebabkan reaksi *delayed-type hypersensitivity* terhadap komponen antigen yang berasal dari ekstrak *Mycobacterium tuberculosis* atau tuberkulin (Kenyorini, *et al.*, 2006). Tuberkulin merupakan komponen protein kuman TB yang mempunyai sifat antigenik yang kuat. Uji tuberkulin merupakan alat diagnosis TB yang sudah lama dikenal, tetapi hingga saat ini masih mempunyai nilai diagnostik yang tinggi. Uji ini dilakukan berdasar adanya hipersensitivitas tubuh akibat adanya infeksi *Mycobacterium tuberculosis* terutama pada anak dengan sensitivitas dan spesifitas di atas 90% (Sidhi, 2010).

Reaksi uji tuberkulin yang dilakukan secara intradermal akan menghasilkan hipersensitiviti tipe IV atau *delayed-type hypersensitivity* (DTH). Masuknya protein TB saat injeksi akan menyebabkan sel T tersensitisasi dan menggerakkan limfosit ke tempat suntikan. Limfosit akan merangsang terbentuknya indurasi dan vasodilatasi lokal, edema, deposit fibrin dan penarikan sel inflamasi ke tempat suntikan (Kenyorini, *et al.*, 2006).

Reaksi tuberkulin merupakan reaksi DTH. Protein tuberkulin yang disuntikkan di kulit, kemudian diproses dan dipresentasikan ke sel dendritik/Langerhans ke sel T melalui molekul MHC-II. Sitokin yang diproduksi oleh sel T, akan membentuk molekul adhesi endotel. Monosit keluar dari pembuluh darah dan masuk ke tempat suntikan yang berkembang menjadi makrofag. Produk sel T dan makrofag menimbulkan edema dan bengkak. Test kulit positif maka akan tampak edema lokal atau infiltrat maksimal 48-72 jam setelah suntikan. Hasil uji tuberkulin negatif dapat diartikan sebagai seseorang tersebut tidak terinfeksi dengan basil TB. Sedangkan Hasil uji tuberkulin yang positif dapat diartikan sebagai seseorang tersebut sedang terinfeksi basil TB. jika hasil uji tuberkulin positif maka harus dikonfirmasi dengan pemeriksaan foto toraks dan pemeriksaan dahak. Jika hasil foto toraks tersebut normal maka dapat dilakukan pemberian terapi TB laten, tetapi jika hasil foto toraks terjadi kelainan dan menunjukkan ke arah TB maka dapat dimasukkan dalam TB aktif (Kenyorini, *et al.*, 2006).

B. Tinjauan Tentang Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*

Morfologi Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*

Penyebab TB adalah *Mycobacterium tuberculosis*, sejenis kuman berbentuk batang dengan ukuran panjang 1-4 mikron, lebar kuman 0,3-0,6 mikron, akan tumbuh pada pH optimal 6,4-7 (Saputra, 2013). *Mycobacterium tuberculosis* termasuk dalam genus mycobacteria. *Mycobacterium* adalah kuman aerob, tidak membentuk spora, berbentuk batang, non motil, habitatnya di tanah, lingkungan akuatik, air, binatang, dan manusia. *Mycobacterium* sekeluarga dengan *Corynebacterium* dan *Actinomycetes*. *Mycobacterium tuberculosis* adalah kuman obligat aerob dengan pertumbuhan optimal pada suhu 35⁰C - 37⁰C , sehingga kuman ini lebih suka hidup pada paru-paru sebelah kanan yang saturasi oksigen lebih tinggi dari pada paru-paru sebelah kiri (Haribi dan Harahap, 2009).



Gambar 1. Struktur morfologi *Mycobacterium tuberculosis* (Kaihena, 2013)

Mycobacterium tuberculosis berbentuk batang lurus atau sedikit melengkung, tidak berspora dan tidak berkapsul. Dinding *M. tuberculosis* sangat kompleks, terdiri dari lapisan lemak cukup tinggi (60%). Penyusun utama dinding

sel *M. tuberculosis* ialah asam mikolat, lilin kompleks (*complex-waxes*), trehalosa dimikolat yang disebut *cord factor* dan *Mycobacterial sulfolipids* yang berperan dalam virulensi. Asam mikolat merupakan asam lemak berantai Panjang (C60 – C90) yang dihubungkan dengan arabinogalaktan oleh ikatan glikolipid dan dengan peptidoglikan oleh jembatan fosfodiester. Unsur lain yang terdapat pada dinding sel bakteri tersebut adalah polisakarida seperti arabinogalaktan dan arabinomanan. Struktur dinding sel yang kompleks tersebut menyebabkan bakteri *M. tuberculosis* bersifat tahan asam, yaitu apabila sekali diwarnai akan tetap tahan terhadap upaya penghilangan zat warna tersebut dengan larutan asam – alkohol. Komponen antigen ditemukan di dinding sel dan sitoplasma yaitu komponen lipid, polisakarida dan protein. Karakteristik antigen *M. tuberculosis* dapat diidentifikasi dengan menggunakan antibodi monoklonal. Saat ini telah dikenal *purified antigens* dengan berat molekul 14 kDa (kiloDalton), 19 kDa, 38 kDa, 65 kDa yang memberikan sensitiviti dan spesifisiti yang bervariasi dalam mendiagnosis TB. Ada juga yang menggolongkan antigen *M. tuberculosis* dalam kelompok antigen yang disekresi dan yang tidak disekresi (somatik). Antigen yang disekresi hanya dihasilkan oleh basil yang hidup (PDPI, 2006).

Genus *Mycobacterium* merupakan kelompok bakteri gram positif, berbentuk batang, berukuran lebih kecil dibandingkan bakteri lainnya. Genus ini mempunyai karakteristik unik karena dinding selnya kaya akan lipid dan lapisan tebal peptidoglikan yang mengandung arabinogalaktan, lipoarabinomanan dan asam mikolat. Asam mikolat tidak biasa dijumpai pada bakteri lain dan hanya dijumpai pada dinding sel *Mycobacterium* dan *Corynebacterium*. *M. tuberculosis*

dibedakan dari sebagian besar bakteri lainnya karena bersifat pathogen dan dapat berkembangbiak dalam sel fagosit hewan dan manusia. Pertumbuhan *M. tuberculosis* relatif lambat dibandingkan bakteri lainnya. *M. tuberculosis* tidak menghasilkan endotoksin maupun eksotoksin. Bagian selubung *M. tuberculosis* mempunyai sifat pertahanan khusus terhadap proses mikobakterisidal sel hospes. *M. tuberculosis* juga mempunyai sifat khusus yaitu tahan terhadap asam pada pewarnaan, oleh karena itu disebut pula sebagai Basil Tahan Asam (BTA), kuman ini cepat mati dengan sinar matahari langsung, tetapi dapat bertahan hidup beberapa jam ditempat yang gelap dan lembab. Dalam jaringan tubuh kuman ini dapat dorman selama beberapa tahun. Dinding sel kuman ini kaya akan lipid yang berfungsi melindungi mikobakteri dari proses fagolisosom, hal ini dapat menerangkan mengapa mikobakteri dapat hidup pada makrofag normal yang tidak teraktivasi (Kaihena, 2013). Di dalam jaringan kuman hidup dalam sitoplasma makrofag sebagai parasit intraseluler. Makrofag yang semula memfagositosis kuman menjadi disukai karena mengandung banyak lipid (Saputra, 2013).

Taksonomi *Mycobacterium tuberculosis*

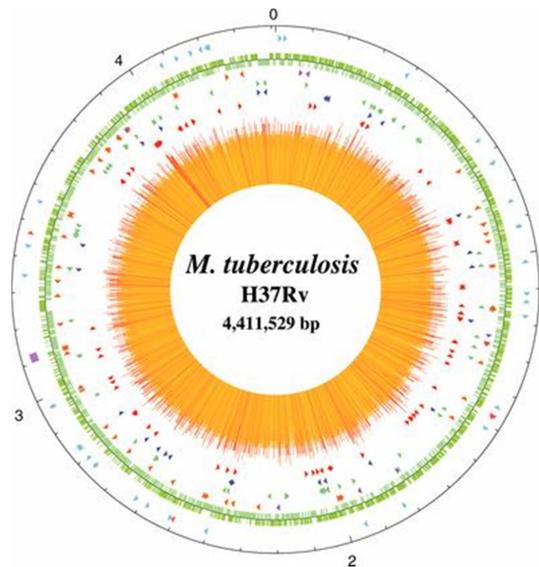
Menurut Kenneth Todar, 2012 klasifikasi bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yaitu :

Kingdom : Bacteria
Phylum : *Actinobacteria*
Order : *Actinomycetales*
Suborder : *Corynebacterineae*

Family : *Mycobacteriaceae*
Genus : *Mycobacterium*
Species : *M. tuberculosis*

Genom *Mycobacterium tuberculosis*

Mycobacterium tuberculosis galur H37Rv adalah strain yang paling sering dipelajari dari tuberkulosis di dalam laboratorium penelitian. H37Rv terus menjadi strain TB yang paling digunakan di laboratorium, dan merupakan genom lengkap yang diterbitkan pada tahun 1998. Genom dari *Mycobacterium tuberculosis* terdiri 4.411.529 pasangan basa, mengandung sekitar 4.000 gen dan memiliki kandungan guanin + sitosin yang sangat tinggi yang terlihat dalam isi asam amino yang terkandung dalam protein. Ukuran genom dari *M. tuberculosis* sendiri adalah 4,4 Mb (*mega base*) (Cole, *et al.*, 1998).



Gambar 2. Peta Genom *M. tuberculosis* (Cole, *et al.*, 1998).

Pemeriksaan *genomic Mycobacterium tuberculosis* dengan *bacterial artificial chromosomes* (BAC) *array* dan *deoxyribonucleat acid* (DNA)

microarrays dapat mengidentifikasi suatu segmen genomik, yaitu RD 1 sampai RD 16 yang ada pada *Mycobacterium tuberculosis*. Kedua penelitian ini dapat mengidentifikasi delesi genom dari *Mycobacterium bovis bacillus calmette guerin* (BCG) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* strain H37Rv (Brosch, *et al.*, 2000). Mahairas, *et al.* (1996) menggunakan *comparative subtractive genomic hybridization* terhadap strain virulen *Mycobacterium tuberculosis* dan *Mycobacterium bovis* BCG yang dilemahkan, dari hasil hibridisasi didapatkan tiga genom yang berbeda (RD 1, RD 2, RD 3) yang hilang pada genom *Mycobacterium bovis* BCG (Parkash, *et al.*, 2009).

1) *Regions of Differences 1* (RD 1)

Regions of Differences 1 tidak terdapat pada semua strain *Mycobacterium bovis* BCG dan hampir semua mikobakteria lingkungan. Identifikasi segmen gen 9,5 kb yang meliputi 9 *open reading frame* (ORF) dari RD 1 (Rv 3871c-Rv 3879c) terdapat pada strain virulen *Mycobacterium tuberculosis* dan delesi pada semua substrain BCG. Dua dari ORF pada RD ini (Rv 3874 dan Rv 3875) yaitu, 10 kDa *culture filtrate protein* (CFP-10) dan 6 kDa ESAT-6 merupakan antigen poten yang dapat menginduksi respon sel T dan sebagai antigen yang dikenal pada awal infeksi (Ganguly dan Sharma, 2012).

2) *Regions of Differences 2* (RD 2)

Mahairas, *et al.* (1996) menemukan RD2 yang tidak ada pada beberapa strain BCG. Diantara tiga belas substrain BCG yang diperiksa oleh Behr, *et al.*, 8 substrain menunjukkan delesi 10 kb. Dua gen dalam daerah RD2 mengkode protein imunogenik MPT-64 dan protein regulator LysR. Beberapa peneliti

berspekulasi bahwa hilangnya RD2 pada beberapa sustrain BCG mungkin bertanggung jawab atas menurunnya imunitas protektif yang dipicu oleh substrain BCG tersebut (Parkash et al., 2009).

3) *Regions of Differences 3* (RD 3)

Daerah RD3 sesuai dengan satu (ϕ Rv1) dari dua *prophage* (ϕ Rv1 dan ϕ Rv2) dan tempat pada genom *Mycobacterium tuberculosis*, panjang keduanya 10 kb dan ϕ Rv1 hilang pada strain *Mycobacterium bovis* BCG (Parkash, et al., 2009).

Fisiologi Pertumbuhan

Menurut Todar (2008) *Mycobacterium tuberculosis* bersifat aerob obligatif sehingga selalu ditemukan di lobus paru bagian atas yang memiliki sirkulasi udara yang baik dan bersifat intraseluler fakultatif terutama pada makrofag. Energi dapat diperoleh dari oksidasi senyawa karbon sederhana yang dapat merangsang pertumbuhan bakteri (Putra, 2012), pertumbuhan optimal pada suhu 35⁰C-37⁰C dengan pH 6,4-7, memiliki waktu generasi yang lambat 15-20 jam dan membutuhkan 3-4 minggu untuk membentuk koloni secara *in vitro* (Uplekar, 2012).

Pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* dapat dilihat tanpa bantuan mikroskop. Koloni bakteri dari spesimen klinik akan tampak pertumbuhannya di media agar miring LJ (*Lowenstein–Jensen*) berbentuk cembung, kering, berwarna kuning gading (Forbes et al., 2007). Jika dipasteurisasi pada suhu 60⁰C, *M. tuberculosis* ini akan mati dalam waktu 15 – 20 menit. *M. tuberculosis* juga sangat rentan terhadap paparan sinar matahari dan radiasi sinar ultraviolet, tetapi bakteri

ini mampu bertahan hidup pada suhu rendah (dapat bertahan hidup dalam lemari es). Hal ini disebabkan karena bakteri tersebut berada dalam keadaan *dormant*. Pada kondisi tersebut bakteri dapat diaktifkan dan menjadi bakteri tuberkulosis yang aktif (Putra, 2012)

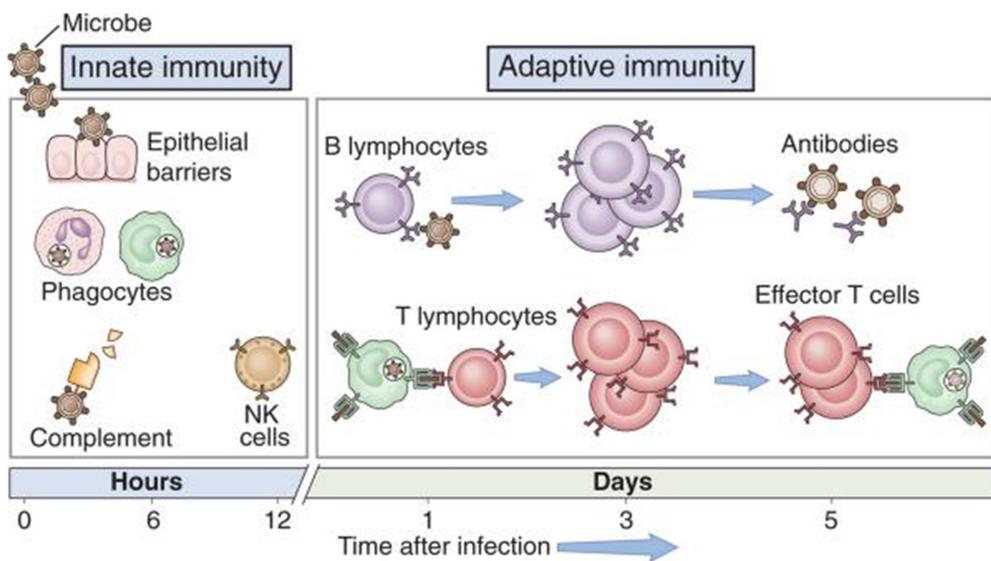
Berdasarkan pewarnaan gram, *M. tuberculosis* sulit diklasifikasikan ke dalam gram positif atau gram negatif, hal tersebut disebabkan *M. tuberculosis* tidak memberikan karakteristik kimia dari keduanya. Jika pewarnaan gram dilakukan, akan dihasilkan warna merah yang sangat lemah dan tidak merata atau sama sekali tidak memberikan warna. Pewarnaan harus dilakukan dengan metode *Ziehl-Neelsen* positif untuk basil tahan asam (BTA) sehingga *M. tuberculosis* akan terlihat berbentuk batang berwarna merah. Basil tuberkulosis ditandai dengan tahan asam, sifat tahan asam ini tergantung pada integritas selubung yang terbuat dari *wax-D* (Jawetz *et al.*, 2008). Oleh sebab itu *M. tuberculosis* disebut Basil Tahan Asam (BTA) (Haribi dan Harahap, 2009).

Sistem Imun

Ketika organisme menginfeksi tubuh, sistem pertahanan tubuh sudah berada ditempat infeksi (tempat yang semestinya) sehingga cukup mencegah mekanisme replikasi dan penyebaran dari agen infeksius tersebut, dengan demikian dapat mencegah perkembangan penyakit didalam tubuh. Mekanisme penunjang ini, mengarah kepada sub bagian dari sistem imunitas alamiah tubuh. Akan tetapi, bila sistem imun alami tubuh tidak mampu untuk mengendalikan agen infeksius yang menginvasi, maka sistem imun adaptif tubuh berperan. Walaupun dibutuhkan beberapa saat agar sistem imun adaptif dapat bekerja

efisien. Ketika sistem imun adaptif bekerja, maka akan mengurangi jumlah agen infeksius, dan memulihkan kondisi tubuh dari penyakit (roitt, *et al.*, 2002).

Perbedaan utama antara respon adaptif dan mekanisme imunitas alami yaitu adanya memori yang spesifik yang memberikan pola pada sistem adaptif imun tubuh, yang didapatkan ketika terjadi infeksi penyakit di dalam tubuh. Sehingga apabila terjadi infeksi untuk kedua kalinya oleh agen infeksius yang sama, maka sistem pertahanan tubuh akan bereaksi dengan cepat. Sehingga patut ditekankan, ada sinergi (kerja sama) antara kedua sistem imun tersebut., dimana mekanisme rrespon adaptif tubuh sangat memperkuat efisiensi dari imunitas alami (awal) tubuh (Mims, *et al.*, 2004).



Gambar 3. Mekanisme dari sistem imun alami yang menyediakan pertahanan awal dari proses infeksi. Sistem imun adaptif mengalami perkembangana lebih lanjut, sehingga menyebabkan aktivasi sel limfosit. Mekanisme kerja kinetik dari sistem imun alami dan adaptif bervariasi tergantung dari tipe infeksi (Mims, Et al., 2004)

Perbedaan antara kedua sistem tersebut dapat dilihat pada **Gambar 3**. Respon imun alami terdiri atas mekanisme pertahanan seluler dan biokimia yang berada didalam tubuh, bahkan sebelum terjadi infeksi dan menyeimbangkan respon cepat terhadap infeksi. Mekanisme ini hanya bekerja terhadap mikroba (dan produk dari sel yang rusak), dan merespon dengan cara yang sama terhadap infeksi berulang. Komponen dasar dari respon imun alami adalah (1) barrier fisik dan kimia, seperti substansi antimikrobial yang diproduksi dipermukaan epitelial; (2) sel fagositik (neutrofil, makrofag) dan sel NK (Natural Killer); (3) protein darah, termasuk kelompok komplemen dan berbagai mediator inflamasi; dan (4) protein sitokin yang meregulasi dan mengkoordinasi kebanyakan aktivitas sel dari imunitas alami. Mekanisme respon imun alami bersifat spesifik terhadap struktur mikroba, dan tidak dapat membedakan substansi asing (Andrew, et al., 2007).

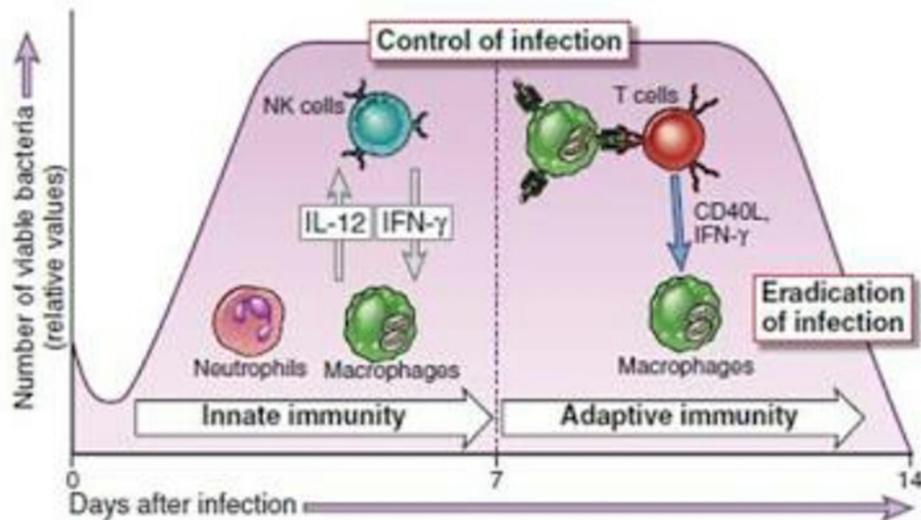
Sebaliknya, respon imun adaptif distimulasi oleh keberadaan agen infeksius dan peningkatan kemampuan defensif terhadap setiap mikroba penyebab infeksi. Disebabkan karena respon imun adaptif berkembang sebagai tanggapan respon dan beradaptasi terhadap infeksi. Karakteristik respon imun adaptif sangat spesifik untuk membedakan molekul dan memiliki kemampuan “memori” serta merespon dengan sangat cepat terhadap infeksi berulang oleh mikroba yang sama. Sistem imun adaptif mampu mengenali dan bekerja pada mikroba dengan jumlah besar maupun substansi yang dihasilkan oleh mikroba. Karena kemampuan sistem imun adaptif untuk membedakan jenis mikroba (maupun dengan ciri yang hampir sama) beserta molekulnya sehingga disebut sistem imun spesifik. Komponen utama dari sistem imun adaptif adalah limfosit dan sekret limfosit, seperti

antibodi. Senyawa asing yang menginduksi respon imun spesifik disebut antigen (Bratawidjaja, 2004).

Respon sistem imun alami dan adaptif merupakan komponen yang terintegrasi pada sistem pertahanan tubuh yang terdiri dari sejumlah sel dan molekul yang berperan secara sama-sama. Respon imun alami berperan sebagai sistem pertahanan awal tubuh melawan infeksi, namun banyak mikroba patogen yang berevolusi sehingga bersifat resisten terhadap respon imun alami tubuh, sehingga proses eliminasinya membutuhkan proses yang lebih besar dari respon imun adaptif (Mims, et al., 2004).

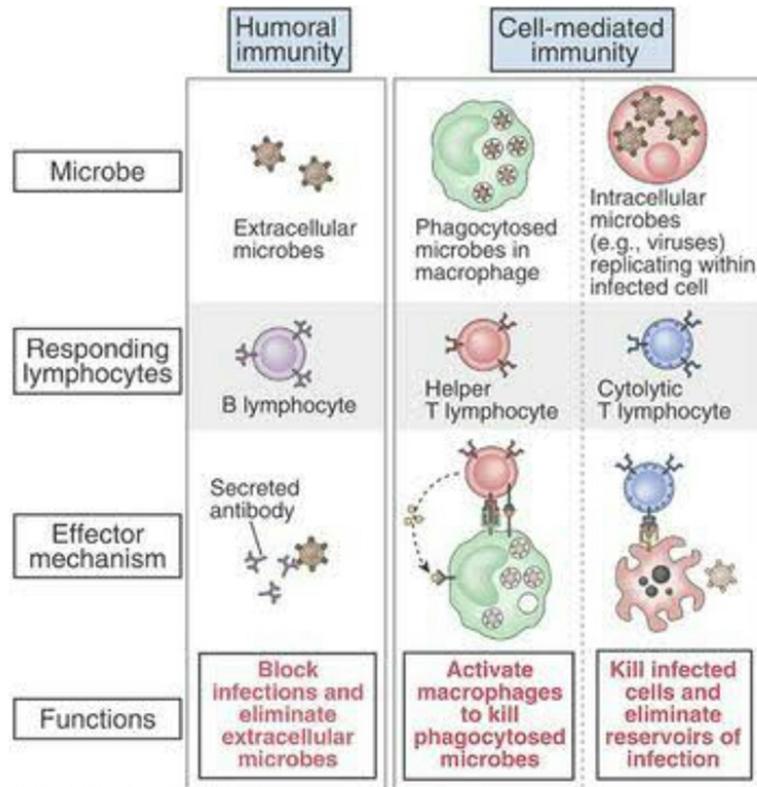
a. Tipe respon imun adaptif

Ada dua tipe respon imun adaptif, yaitu sistem humoral dan sistem imun selular, yang dimediasi oleh beragam komponen dari sistem imun dan berperan untuk mengeleminasi berbagai tipe mikroba (gambar 5). Sistem imun humoral dimediasi oleh molekul pada darah dan sekret mukosa, yang disebut antibodi, yang diproduksi oleh sel limfosit B (disebut Sel B). Antibodi mengenali antigen mikrobial, menetralkan infeksi oleh mikroba, dan menjadikan mikroba sebagai target kerja dengan eliminasi oleh berbagai mekanisme efektor. Sistem imun humoral merupakan prinsip dasar dari proses pertahanan melawan mikroba ekstraseluler dan toksin mikroba, karena antibodi dapat berikatan dengan mikroba dan toksinnya, dan membantu menghilangkan patogen.



Gambar 4. Respon imun alami terhadap bakteri intraseluler terdiri atas sel fagosit dan sel NK, interaksi diantaranya dimediasi oleh sitokin (IFN- γ dan IL-12). Tipe respon imun untuk bakteri intraseluler adalah respon imun seluler, dimana sel T mengaktifkan proses fagositosis untuk eliminasi mikroba. Sistem imun alami dapat mengendalikan pertumbuhan bakteri, namun eliminasi bakteri membutuhkan imun adaptif. Prinsip ini didasarkan pada infeksi oleh *Lysteria monocytogenes* pada tikus. Jumlah bakteri yang hidup ditunjukkan pada aksis Y yang menunjukkan jumlah koloni bakteri yang dapat tumbuh pada jaringan tikus yang terinfeksi. (Sumber Unanue ER. Penelitian listeriosis menunjukkan simbiosis antara respon imun alami dengan respon sel T. *Immunological Reviews* 158: 11-25, 1997).

Sistem imun seluler dimediasi oleh limfosit T. Mikroba intraseluler seperti virus dan bakteri, dapat bertahan hidup dan memperbanyak diri didalam fagosit dan sel host, sehingga tidak dapat dijangkau oleh antibodi. Pertahanan terhadap infeksi intraseluler merupakan kerja utama dari sistem imun seluler, yang menyebabkan destruksi mikroba didalam fagosit, atau mematikan sel yang telah terinfeksi untuk mengurangi reservoir dari proses infeksi (Andrew, et al., 2007).



Gambar 5. Tipe sistem imun adaptif. Pada sistem imun humoral, limfosit B mensekresikan antibodi yang mencegah infeksi dengan mengeliminasi mikroba ekstraseluler. Pada sistem imun seluler, sel Th limfosit mengaktivasi makrofag untuk memfagositosis mikroba, atau sitotoksin limfosit T (CTLs) secara langsung menghancurkan sel yang terinfeksi (Mims, et al., 2004).

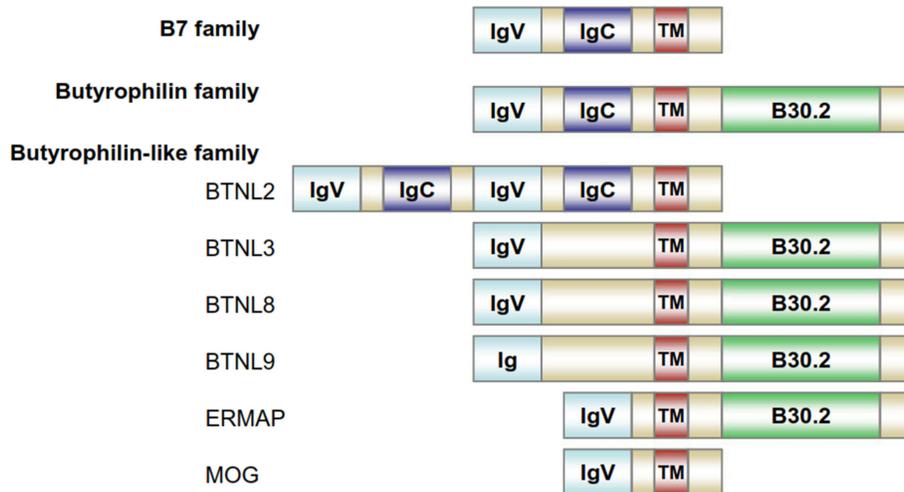
Perlindungan imunitas melawan mikroba dapat diinduksi oleh respon host pada mikroba, atau melalui transfer antibodi/limfosit spesifik untuk mikroba. Untuk membentuk suatu imunitas terhadap patogen, dapat dilakukan secara aktif dan pasif.

Butyrophilin Like-2 (BTNL-2)

a. Butyrophilin dan Keluarga/Family butyrophilin-like

Sekelompok molekul yang berbagi homologi struktural dengan keluarga B7, tetapi superfamili butyrophilin masih kurang dieksplorasi saat ini [22]. Seperti keluarga B7, butyrophilin (BTN) dan butyrophilin-like (BTNL) keluarga protein

yang secara struktural didefinisikan sebagai bagian dari domain antigen (Ig) ekstraseluler.



Gambar 6. Organisasi domain anggota keluarga B7, BTN dan BTNL manusia. Organisasi domain protein yang diketahui atau diprediksi yang ditunjukkan untuk anggota keluarga B7, butyrophilin dan butyrophilin like pada manusia. Untuk menyederhanakan, anggota keluarga B7 dan butyrophilin tidak ditunjukkan-pengecualian untuk organisasi domain umum yang diuraikan adalah bahwa B7-H3 dapat diekspresikan dengan satu atau dua set domain IgV-IgC (Chapova Al, et al., 2004), dan BTN3A2 tidak memiliki domain intraseluler B30.2 yang jelas. TM, domain transmembran. Domain transmembran diprediksi untuk BTNL8, dan domain IgC untuk BTNL3, 8 dan 9, relatif lemah.

Berbeda dengan keluarga B7, keluarga BTN bervariasi secara signifikan antar spesies. Genom manusia mengandung anggota BTN, tetapi juga telah diperluas untuk memasukkan tujuh gen BTN tambahan dan setidaknya empat BTNL. Ketujuh BTN telah dikelompokkan menjadi tiga kelas (BTN, BTN2, dan BTN3). Subfamili BTN hanya terdiri dari BTN, sedangkan subfamili BTN2 berisi tiga anggota yang sangat homolog (BTN2A1, BTN2A2, BTN2A3), seperti halnya subfamily BTN3 (BTN3A1, BTN3A2, dan BTN3A3). Sebaliknya, genom tikus hanya mengkode dua anggota butyrophilins yakni, BTN, dan BTN2.

Selain BTN, keluarga terpisah seperti gen butyrophilin (BTNL) telah diidentifikasi, didefinisikan memiliki homologidengan BTN. Dan, seperti BTN, BTNL juga memiliki bervariasi secara signifikan antar spesies. Genom manusia memiliki empat identitas BTNLs, bernama BTNL 2, 3, 8 dan 9, sedangkan genom tikus memiliki tujuh anggota, bernama BTNL1, 2, 4, 5, 6, 7 dan 9. Karena cDNA telah sampai saat ini, belum dilaporkan untuk tikus BTNL4, BTNL5 dan BTNL6, mungkin adalah pseudogen. Dari semua BTNL ini, hanya BTNL 2 dan 9 yang memiliki orthologues yang jelas antara manusia dan tikus. Selain BTNL disebutkan di atas, ada gen-gen mirip butyrophilin lain yang telah yakni non-BTNL, termasuk ERMAD dan MOG, keduanya ditemukan pada manusia dan tikus. Implikasi fungsional dari perbedaan keluarga yang luas antara tikus dan manusia tidak jelas. Sementara keluarga butyrophilin pada awalnya diidentifikasi oleh kemampuan untuk membantu produksi gumpalan lemak susu, yang berhubungan dengan fungsi yang sekarang telah diidentifikasi untuk beberapa anggota (Ogg SI, et al., 2004; Guggenmos, et al., 2004; Robenek H., et al., 2006).

b. BTNL-2: Hubungan Genetik dan Fungsi Immun

Dalam superfamili butyrophilin, sebagian besar informasi yang diketahui saat ini adalah tentang BTNL2. Ada tiga baris bukti baru-baru ini yang berkaitan dengan BTNL2 sebagai molekul yang terlibat dalam kontrol imunoregulasi gangguan terkait kekebalan: (1) polimorfisme pada manusia menghubungkan BTNL2 dengan penyakit radang, (2) BTNL2 berbagi homologi dan struktur protein dengan keluarga B7, keluarga / family dengan fungsi yang dikenal dalam

sistem kekebalan tubuh, dan (3) BTNL2 bertindak sebagai molekul kostimulatoris negatif untuk sel T.

c. SNP pada BTNL 2 Memberi Resiko pada Penyakit

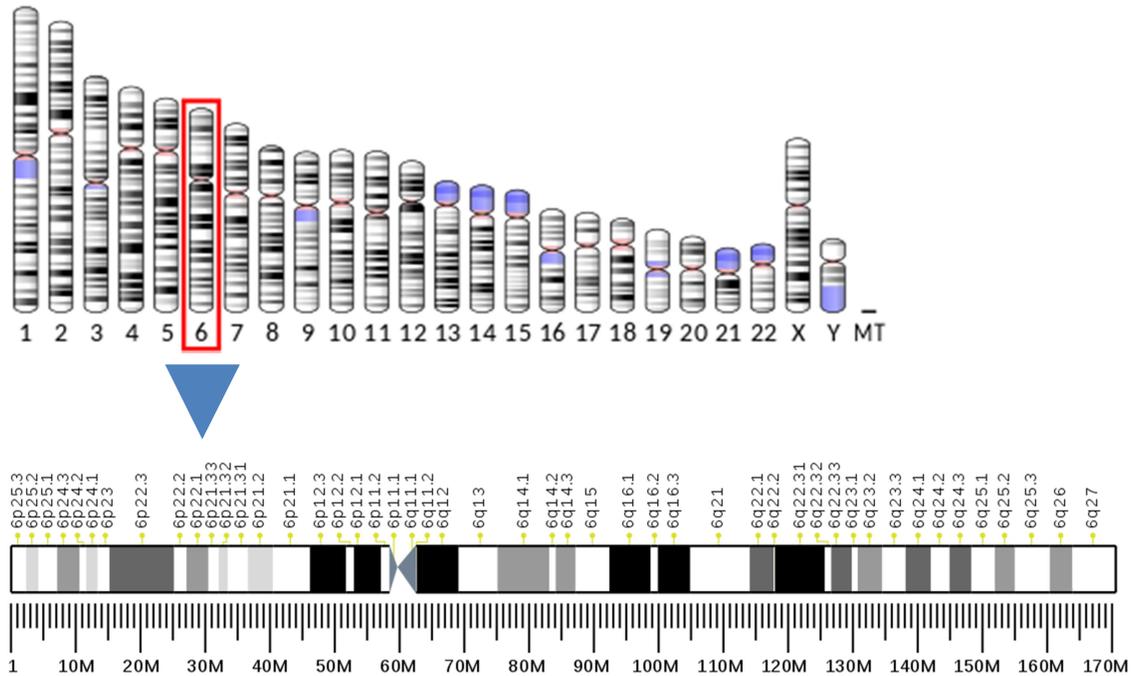
Polimorfisme pada gen manusia untuk BTNL2 (BTL-II) terkait dengan semakin banyak penyakit peradangan, semuanya dapat ditandai dengan aktivasi sel T yang tidak sesuai. Skala besar pemetaan genomik pada lokus penyakit menuju pada identifikasi SNP dalam BTNL2 (rs2076530) yang meningkatkan risiko pengembangan sarkoidosis (Velentonyte, 2005). Sedangkan dampak yang tepat dari rs2076530 pada fungsi BTNL2 belum ditetapkan, diperkirakan untuk menghasilkan varian soluble BTNL2 melalui pembentukan *premature stop* kodon. Pengetahuan tentang fungsi dari BTNL2 yang tepotong (*truncated form*), dan perbedaannya dengan *full-length* BTNL2, akan mungkin menghasilkan pengetahuan tentang kontribusi BTNL2 terhadap penyakit. Selanjutnya penelitian berulang tentang asosiasi SNP rs2076530 dengan sarkoidosis, dan lebih lanjut menunjukkan bahwa risiko yang diberikan dapat menjadi istimewa untuk bentuk sarkoidosis kronis, bukan pada bentuk akut.

Mengikuti laporan awal yang menghubungkan BTNL2 dan sarkoidosis, dampak polimorfisme BTNL2 telah ditanyakan pada beberapa tambahan penyakit radang. Polimorfisme di BTNL2 sekarang telah diteliti pada radang usus besar, rheumatoid arthritis, myositis, systemic lupus erythematosus, diabetes tipe I, kusta, tuberkulosis dan antigen IgE spesifik. Interpretasi dari banyak studi hubungan positif yang telah diterbitkan sangatlah kompleks oleh lokasi gen BTL-II dalam klaster gen HLA, serta ketidakseimbangan hubungannya dengan HLA-

DRB, dikenal berhubungan dengan banyak penyakit inflamasi (Heather A., et al, 2009).

d. BTNL 2 Secara Struktural Mirip dengan Famili B7

BTNL2 adalah salah satu dari dua BTNL dengan ortologue yang jelas. Tikus kembar dan manusia (kemiripan aa 67%). Pengkodean gen BTNL2 terkandung dalam lokus MHC pada tikus dan manusia, dan pada awalnya digambarkan dalam makalah analisis genomik butyrophilin-like 2 (BTL-II), sebuah soluble protein butyrophilin dengan fungsi yang tidak diketahui (Stammers M, et al., 2000). Mirip dengan anggota keluarga B7, BTNL2 mengandung dua domain seperti Ig (IgV dan IgC), dan memiliki lebih banyak domain transmembran dan ekor sitoplasma yang tidak memiliki domain B30.2. Kurangnya besar ekor sitoplasma dengan domain sinyal yang jelas membedakan BTNL2 dari sebagian besar anggota keluarga BTN dan BTNL lainnya yang, secara umum, mengandung domain B30.2 / RING prototipikal. Ini memberi kesan bahwa BTNL2 sendiri mungkin tidak mampu memberi signal, sebaliknya tindakan utamanya mungkin bertindak melalui pengiriman sinyal ke dalam sel, mengekspresikan reseptor kognitifnya. Beberapa *splice* varian dan polimorfisme telah diidentifikasi pada tingkat genom BTNL2 tikus dan manusia, yang masing-masing disandikan oleh delapan ekson (Heather A., et al, 2009).



Gambar 7. Posisi gen BTNL2 pada kromosom nomor 6 (Uniprot, 2018)

e. BTNL-2 menghambat aktivasi sel T

Publikasi terbaru telah mengeksplorasi peran fungsional dari BTNL2 mengungkapkan bahwa BTNL2 dapat menghambat proliferasi sel T sebagai sinyal respon aktivasi sel T (TCR). Secara *in vitro*, domain ekstraseluler dari BTNL2 tikus cukup untuk menghambat sel proliferasi T dan produksi sitokin sebagai respon terhadap anti-CD3 dan molekul-molekul kostimulatoris lainnya (Arnett HA., et al. 2007). IL-2 adalah salah satu sitokin yang produksinya dihambat oleh BTNL2, dan sangat penting untuk kelangsungan hidup dan fungsi sel T. Penambahan IL-2 pada kultur sel T pada kehadiran BTNL2 mampu memulihkan sebagian, tetapi tidak semua, kapasitas liferatif (Nguyen T, et al., 2006).

Meskipun reseptor kognitif untuk BTNL2 pada sel T belum diidentifikasi, BTNL2 tikus dapat menginduksi tanggapan penghambatan yang sama pada sel T manusia (Arnett HA., et al. 2007). Pada sel T tikus, pengikatan BTNL2 menyebabkan penurunan aktivasi NFAT, NFkB, dan AP1, jalur yang dikenal untuk meredam sinyal aktivasi di limfosit (Nguyen T, et al., 2006). Jalur tersebut memberikan sinyal yang tepat dimulai saat pada sel T berikatan dengan BTNL2 meskipun belum diketahui pasti tetapi satu hipotesis, mengingat kesamaannya dengan molekul-molekul kostimulatoris negatif lainnya, BTNL2 berikatan dengan ITIM yang mengandung reseptor.

Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

Dewasa ini telah dikembangkan beberapa metode untuk mengamplifikasi asam nukleat in vitro. Tujuan utama teknik ini adalah untuk memperbaiki sensitivitas uji yang berdasar pada asam nukleat dan untuk menyederhanakan prosedur kerjanya melalui otomatisasi dan bentuk deteksi non isotopik. Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan salah satu teknik amplifikasi asam nukleat in vitro yang paling banyak dipelajari dan digunakan secara luas (Andi Mulia Tjahjasari, 2009). Metode ini pertama dikembangkan pada tahun 1985 oleh Kary B. Mullis, seorang peneliti di perusahaan CETUS corporation (Ginanjari, 2008). Dalam waktu 9 tahun sejak pertama kali dikemukakan oleh ilmuwan dari Cetus Corporation, PCR telah berkembang menjadi teknik utama dalam laboratorium biologi molekuler. PCR adalah suatu metode untuk mengamplifikasi sekwens gen target secara eksponensial in vitro. Pada reaksi ini dibutuhkan DNA

target, sepasang primer, polimerase DNA yang termostabil, buffer reaksi dan alat thermal cycler (Andi Mulia T., 2009).

Dalam penelitian ini digunakan teknik PCR jenis reverse transcriptase di mana cetakan RNA dapat dideteksi dengan PCR jika ekstrak RNA terlebih dahulu diubah menjadi komplemen DNA dengan menggunakan enzim reverse transcriptase (Putra, 1999). RT-PCR juga sering dikenal dengan kinetic polymerase chain reaction. Dalam biologi molekuler, RT-PCR adalah suatu teknik laboratorium untuk mengamplifikasi molekul RNA tertentu. RT-PCR direkomendasikan untuk pemeriksaan rutin dalam surveillance Arbovirus (Cook et al, 2006). Pelipatgandaan ini mengikuti deret ukur (2^n) dan dalam waktu yang relatif singkat mampu memperoleh segmen molekul DNA yang banyak. Pendeteksian ini dilakukan dengan metode pemisahan molekul berdasarkan bobot molekulnya, yang disebut elektroforesis menggunakan gel agarose (agarose gel electrophoresis) dan setelah dilakukan reaksi pewarnaan menggunakan bahan kimia syber safe gel, dapat dilihat adanya pita molekul pada gel agarose (Sudjadi, 2008). Pita molekul ini menandakan adanya segmen DNA atau dengan kata lain DNA terdeteksi. Pertama kali komplementer DNA (cDNA) yang dibuat dari messenger cetakan RNA menggunakan dNTPs dan enzim reverse transcriptase melalui proses reverse transcription. (Wikipedia, 2008). Kemudian proses pelipatgandaan PCR ini meliputi 3 proses utama, yaitu pertama, melepaskan utas ganda DNA menjadi 2 utas tunggal DNA melalui proses yang disebut dengan denaturasi (denaturation).

Proses pelepasan rantai ganda DNA ini memerlukan suhu lingkungan optimum yang saat ini diketahui sebesar 95⁰C. Proses kedua adalah annealing atau pemasangan 2 utas primer pada ke-2 utas tunggal DNA tersebut. Primer itu berfungsi sebagai pancingan awal dalam melipatgandakan segmen DNA. Primer terdiri dari 18-24 deret basa nukleotida pengkode DNA adenin (A), guanin (G), sitosin (C), dan timin (T) yang disintesis secara buatan dan biasanya dapat dipasangkan dengan DNA yang akan dideteksi.

Proses pemasangan primer pada DNA yang akan dideteksi ini membutuhkan suhu lingkungan yang optimum sesuai kebutuhan primer tersebut. Proses ketiga disebut perpanjangan (extension). Pada proses ini keberadaan deoxyribonucleotide triphosphate (dNTP), yang sebelumnya telah ditambahkan ke dalam pereaksi, menyebabkan primer yang tadinya hanya 18 hingga 24 deret basa nukleotida akan memperoleh tambahan basa nukleotida yang terdapat di dNTP dan kemudian menjadi sepanjang segmen DNA yang dilipatgandakan itu. Pada proses ini reaksi tersebut terbantu oleh adanya enzim DNA polimerase dan enzim ini bekerja secara optimum terjadi pada suhu 72⁰C. dNTP sendiri merupakan kumpulan 4 jenis basa nukleotida (A, G, C, dan T) yang terikat pada 3 gugus fosfat dan masing-masing berdiri bebas sampai keberadaan DNA polimerase mengkatalis pengikatannya pada primer. Ketiga proses ini dilakukan berputar-putar atau berulang-ulang sampai jumlah kelipatan segmen DNA sesuai dengan kebutuhannya (Sopian, 2006).

Tinjauan Ekspresi Gen

Transkripsi, translasi, dan modifikasi protein berikutnya mewakili transfer informasi genetik dari salinan arsip DNA ke mRNA, dilanjutkan dengan produksi protein. Meskipun semua sel dalam suatu organisme mengandung DNA, jenis sel dan fungsi yang berbeda secara mendasar karena adanya perbedaan kualitatif dan kuantitatif dalam ekspresi gen mereka, dan kontrol ekspresi gen merupakan jantung dalam diferensiasi dan perkembangan (Waterland, 2006).

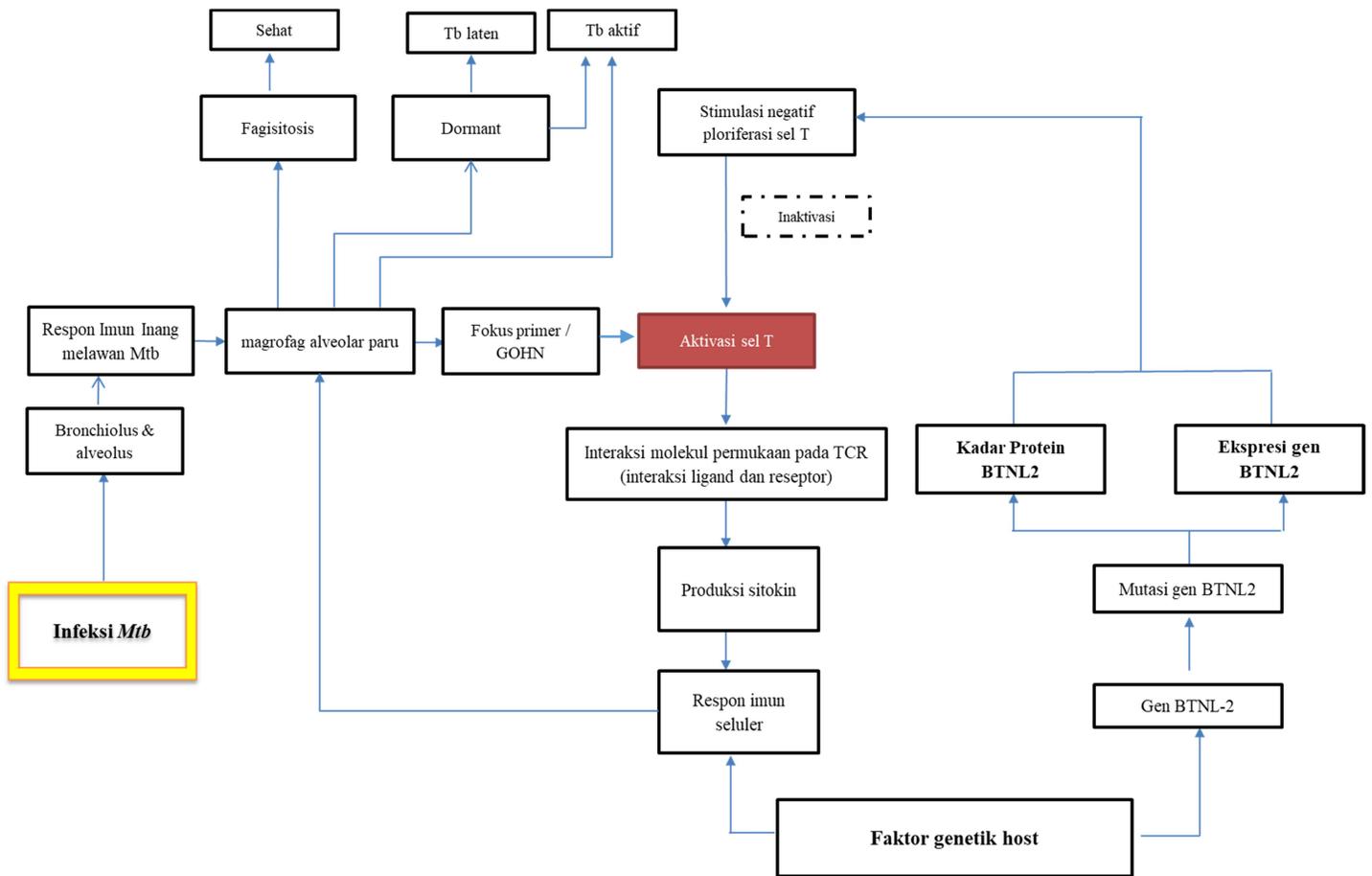
Ekspresi gen adalah proses penentuan sifat dari suatu organisme oleh gen. Suatu sifat yang dimiliki oleh suatu organisme merupakan hasil proses metabolisme yang terjadi di dalam sel. Proses metabolisme dapat berlangsung karena adanya enzim yang berfungsi sebagai katalisator proses-proses biokimia. Enzim dan protein lainnya diterjemahkan dari urutan nukleotida yang ada pada molekul mRNA, dan mRNA itu sendiri disintesis berdasarkan utas cetakan DNA. Gen tersusun dari molekul DNA, sehingga gen menentukan sifat suatu organisme (Suharsono, 2015).

Ekspresi gen di dalam sel memerlukan dua proses yaitu transkripsi dan translasi. Transkripsi adalah proses penyalinan kode-kode genetik yang ada pada urutan DNA menjadi RNA. Transkripsi adalah proses yang mengawali ekspresi sifat-sifat genetik. Urutan nukleotida pada salah satu untai molekul DNA digunakan sebagai cetakan (template) untuk sintesis molekul RNA. Molekul RNA yang disintesis adalah mRNA (messenger RNA), tRNA (transfer RNA) dan rRNA (ribosomal RNA). Molekul mRNA adalah RNA yang merupakan salinan kode-kode genetik pada DNA yang dalam proses selanjutnya (pada proses translasi)

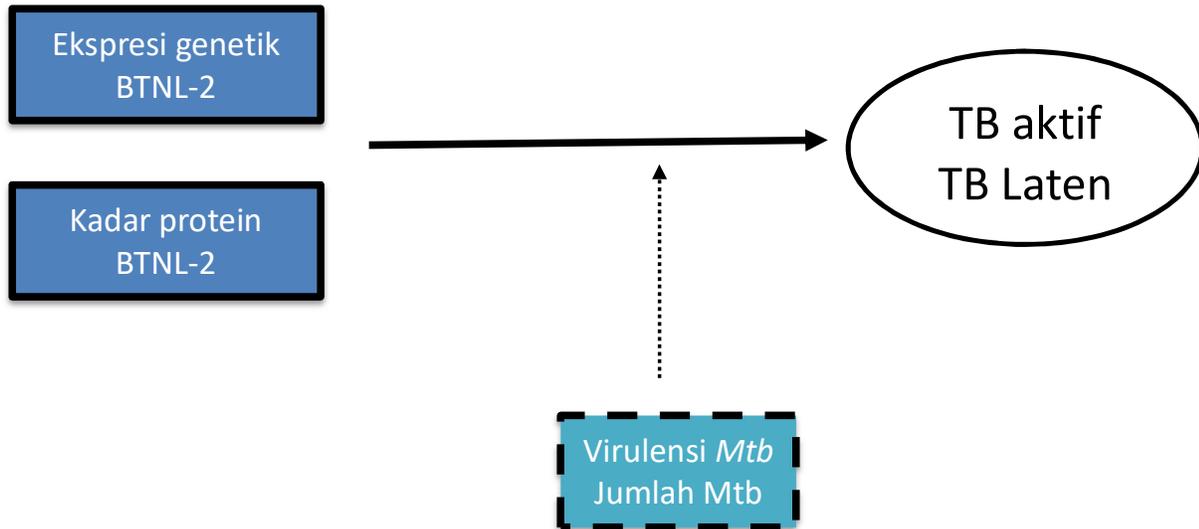
akan diterjemahkan menjadi urutan asam-asam amino yang menyusun suatu polipeptida atau protein tertentu. tRNA adalah RNA yang berperan membawa asam-asam amino spesifik yang akan digabungkan dalam sintesis protein (translasi). Molekul rRNA adalah RNA yang digunakan untuk menyusun ribosom, yaitu partikel sel yang digunakan sebagai tempat untuk sintesis protein.

Dalam transkripsi beberapa komponen utama yang terlibat adalah (Yuwono, 2005): (1) urutan DNA yang akan ditranskripsi, (2) enzim RNA polimerase, (3) faktor-faktor yang ditranskripsi dan (4) prekursor untuk sintesis RNA. Urutan DNA yang ditranskripsi adalah gen yang diekspresikan. Secara garis besar gen merupakan suatu urutan DNA yang mengkode urutan lengkap asam amino suatu polipeptida atau molekul RNA tertentu.

Kerangka Teori



Kerangka konsep



keterangan

-  Variabel
-  Variabel
-  Variabel

Hipotesis

Berdasarkan hal-hal tersebut di atas, maka dirumuskan hipotesis sebagai berikut:

1. Terdapat perbedaan ekspresi gen Butyrophilin Like-2 (BTNL2) antara penderita TB aktif dan TB laten.
2. Terdapat perbedaan kadar Butyrophilin Like-2 (BTNL2) serum antara penderita TB aktif dan TB laten
3. Terdapat korelasi antara ekspresi gen Butyrophilin Like-2 (BTNL2) dengan kejadian TB aktif